

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГЛАДКИХ ФЕДІР ВОЛОДИМИРОВИЧ

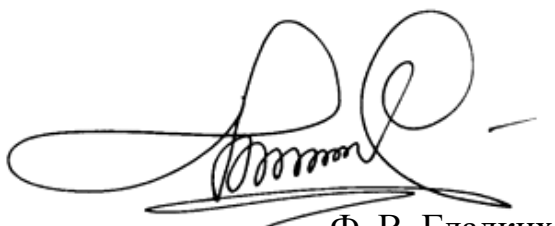
УДК: 615.361+632.938+616.72+615.252.349.7+616.832

ДИСЕРТАЦІЯ
**ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ЗАСТОСУВАННЯ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ
БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРАПІЇ
АУТОІМУННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ**

в галузі знань І – Охорона здоров'я та соціальне забезпечення
за спеціальністю І2 – Медицина (14.03.08 – Імунологія та алергологія)

**Подається для здобуття наукового ступеня
ДОКТОРА МЕДИЧНИХ НАУК**

Дисертація містить результати
власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів
мають посилання на відповідне джерело.



Ф. В. Гладких
(Підпис здобувача) (Ініціали та прізвище)

Науковий консультант: **ЛЯДОВА Тетяна Іванівна**

доктор медичних наук, професор

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Гладких Ф.В. Патогенетичне обґрунтування застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальній терапії аутоімунних захворювань. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук в галузі знань І – Охорона здоров'я та соціальне забезпечення за спеціальністю І2 – Медицина (наукова спеціальність 14.03.08 – Імунологія та алергологія). Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2025. – 509 с.

Дисертаційна робота присвячена інноваційному підходу до вирішення проблеми ефективності та безпечності терапії аутоімунних захворювань шляхом розробки нових терапевтичних стратегій на основі вперше встановлених механізмів дії біологічних засобів, які не містять клітин, при експериментальному ревматоїдному артриті, розсіяному склерозі, тиреоїдиті, міокардиті, мембранозній нефропатії та гепатиті.

Дослідження проведено на 252 нелінійних лабораторних щурах на базі віварію Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки (МОН) України.

Мета роботи: експериментальне обґрунтування підходів до підвищення ефективності та безпечності медикаментозної терапії аутоімунних захворювань шляхом вивчення комплексу механізмів дії безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів.

Задля досягнення поставленої мети потребують вирішення наступні завдання:

1. Охарактеризувати протизапальну та знеболюючу активність безклітинних біологічних засобів на моделі ад'ювантного артриту у щурів та дослідити зміни рівнів ейкозаноїдів і цитокінового профілю при їх застосуванні.

2. Визначити динаміку неврологічного дефіциту на тлі введення безклітинних біологічних засобів у щурів з алергічним енцефаломієлітом.
3. Оцінити нейропротекторну дію безклітинних біологічних засобів при експериментальному алергічному енцефаломієліті за змінами в метаболізмі головного мозку та енергетичних процесах.
4. Встановити зміни рівнів тиреоїдних гормонів та антитіл до тиреоглобуліну при введенні безклітинних біологічних засобів на моделі аутоімунного тиреоїдиту, а також вплив на імуноглобуліновий профіль.
5. Дослідити кардіопротекторні ефекти безклітинних біологічних засобів на зміну морфоструктури міокарда та антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у серцевих тканинах при аутоімунному міокардиті.
6. З'ясувати дію безклітинних біологічних засобів на функціональний стан нирок та рівні простагландину E2, тромбоксану B2 і лейкотрієну B4 при експериментальному аутоімунному нефриті.
7. Вивчити вплив безклітинних біологічних засобів на порушення пігментного обміну, цитолітичні процеси у печінці та їх ефекти на білковосинтезуючу функцію печінки при експериментальному аутоімунному гепатиті.
8. Оцінити антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах печінки, стан енергетичного обміну та зміни в клітинному циклі гепатоцитів при аутоімунному гепатиті після введення безклітинних біологічних засобів.

Об'єкт дослідження – розробка нових шляхів оптимізації терапії аутоімунних захворювань.

Предмет дослідження – біологічні властивості кріоконсервованих безклітинних біологічних засобів (кріоекстракту плаценти, кріоекстракту селезінки та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин).

Встановлено, що безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби (БКБЗ) мають високу протизапальну активність *на моделі ад'ювантного артриту (АА)* у щурів. Застосування кріоконсервованого екстракту плаценти (КЕП) призвело до зменшення об'єму ушкодженої кінцівки на 25,1% ($p < 0,001$), кріоекстракту селезінки (КЕС) – на 20,0% ($p < 0,001$), а кондиціонованого середовища мультипотенційних стовбурових клітин (КС-МСК) – на 22,0% ($p < 0,001$) на 28 день експерименту порівняно з 14 днем. Зниження рівнів лейкоцитів було таким: 53,4% для КС-МСК, 39,9% для КЕП і 32,4% для КЕС. Зменшення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) становило: 69,0% для КС-МСК, 52,7% для КЕС і 19,6% для КЕП ($p < 0,001$). Рівень С-реактивного білка знизився на: 54,5% (КС-МСК, $p < 0,01$), 27,3% (КЕП, $p < 0,01$) і 18,2% (КЕС, $p < 0,01$). Зміни вмісту ейкозаноїдів: простагландин (ПГ) E2 знизився на 24,8% (КС-МСК, $p < 0,05$), тромбоксан (Тх) B2 на 30,3% (КС-МСК, $p < 0,01$) і лейкотрієн (ЛТ) B4 на 25,6% (КС-МСК, $p < 0,01$). Рівень прозапальних цитокінів також знизився: інтерлейкін (ІЛ)-1 β на 42,2% (КЕС, $p < 0,001$), ІЛ-17 на 31,0% (КС-МСК, $p < 0,001$) і фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α) на 10,8% (КЕП, $p = 0,1$). Зниження рівнів протизапальних цитокінів: ІЛ-4 зменшився на 31,3% (КЕП, $p = 0,004$) і ІЛ-10 на 20,5% (КЕС, $p = 0,02$). Оцінка знеболюючої активності показала, що на спінальному рівні ноцицепції КЕП та КС-МСК проявляли співставну аналгетичну активність, яка становила 43,1% та 42,7% відповідно. На супраспінальному рівні ноцицепції найвиразнішу аналгетичну активність виявлено у КС-МСК, яка становила 54,8%. Таким чином, БКБЗ продемонстрували значний терапевтичний потенціал у корекції запальних процесів при аутоімунних захворюваннях (АІЗ).

Застосування БКБЗ сприяло покращенню моторних та когнітивних функцій у щурів з *аутоімунним енцефаломієлітом (АЕМ)*. Зокрема, застосування КС-МСК призвело до збереження м'язового тону та відновлення рухової активності на 368,6%. Найбільше відновлення дослідницької активності спостерігалось в групі, що отримувала КС-МСК (+347,1%, $p < 0,01$). Лікування КЕП також покращило рухову (286,1%) та

емоційну активність, хоча ефекти були менш вираженими, порівняно з КС-МСК. Введення КЕС відновило рухову активність на 102,0%, а емоційну активність на 150,0%, хоча ці зміни не досягали статистичної значущості. Зважаючи на отримані результати, можна зробити висновок, що всі досліджувані БКБЗ сприяють поліпшенню неврологічного статусу при АЕМ, при цьому КС-МСК демонструє найвиразніший результат.

Лікування БКБЗ сприяло покращенню метаболічних процесів в головному мозку щурів з АЕМ. Застосування КС-МСК призвело до зниження рівня лактату до $3,0 \pm 0,16$ мкмоль/г ($p < 0,001$) і покращення метаболізму пірувату. Крім того, лікування КС-МСК знизило співвідношення лактат/піруват до $11,0 [8,0; 11,3]$ мкмоль/г тканини ($p < 0,001$), що свідчить про нормалізацію енергетичних процесів. Лікування КЕП також позитивно вплинуло на рівень пірувату ($p < 0,001$), хоча зміни залишалися меншими, ніж у групі КС-МСК. Введення КЕП сприяло підвищенню рівня малату до $0,30 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p = 0,024$), в той час як КЕС не вплинув на цей показник. Найбільший ефект щодо відновлення енергетичних процесів у мозку спостерігався при застосуванні КС-МСК, що підтверджує його високу нейропротективну активність.

Доведено, що БКБЗ мають значний терапевтичний ефект у лікуванні *аутоімунного тиреоїдиту (АІТ)*. Зокрема, застосування КС-МСК продемонструвало виразний ефект у зниженні рівня антитіл до тиреоглобуліну (АТ до ТГ), зменшивши їх на 13,9% ($p < 0,01$), що свідчить про ефективну корекцію аутоімунної активності. Застосування КЕП та КЕС також призвело до зниження рівня антитіл, проте їх ефект був менш вираженим порівняно з КС-МСК. Крім того, лікування КС-МСК сприяло зниженню рівня загального Т3 на 36,6% ($p < 0,001$) і Т4 на 22,0% ($p < 0,001$), що вказує на нормалізацію функції щитоподібної залози (ЩЗ). Застосування КЕП і КЕС також призвело до зниження цих показників, але ефекти були менш вираженими. Важливим результатом є покращення співвідношення загального до вільного Т4, яке зросло на 62,3% ($p = 0,001$) після лікування КС-МСК, що вказує на відновлення

гормонального балансу. Лікування КС-МСК також супроводжувалося зниженням рівнів IgA на 19,2% ($p=0,001$), IgM на 39,9% ($p<0,001$) і IgG на 44,3% ($p<0,001$), що свідчить про покращення імунної відповіді.

Продemonстровано, що застосування БКБЗ ефективно коригує структурні та функціональні порушення серця *при аутоімунному міокардиті (АІМ)*. Введення КЕП зменшило товщину міжшлуночкової перегородки (ТМПД) на 18,7% ($p=0,001$), що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін серця. Це перевищує ефект кордарону, де ТМПД зменшилася на 9,9% ($p=0,01$). КЕС також призвів до статистично значущого зменшення ТМПД на 12,1% ($p=0,006$). Крім того, КЕП знизив кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка (КСО) на 62,0% ($p<0,001$), що підтверджує виражений кардіопротекторний ефект препарату. У групі КЕП значно покращилися функціональні показники: об'єм хвилинного викиду (ХО) збільшився на 97,5%, до 232 [227; 313] мл/хв ($p=0,004$), а фракція викиду (ФВ) підвищилась до 80,1% ($p<0,001$). У групі КЕС спостерігалось менше покращення: ХО зріс на 50,5% ($p=0,05$), ФВ досягла 60,4% ($p=0,01$), але ефект був статистично значущим. Водночас, відновлення антиоксидантної активності у групах КЕП та КЕС було значним: активність супероксиддисмутази (СОД) зросла на 47,3% (КЕП, $p<0,01$) та 33,6% (КЕС, $p<0,05$), що вказує на значне покращення окислювально-відновлювальних процесів у серцевому м'язі. Крім того, антиоксидантний потенціал у групі КС-МСК збільшився на 65,2% ($p<0,001$), що підтверджує високий рівень кардіопротекції, зумовлений цією терапією. Це може бути важливим фактором для збереження функцій серця при аутоімунних захворюваннях, особливо у разі міокардиту, де запальні процеси і окислювальний стрес є одними з основних механізмів ураження.

Встановлено, що БКБЗ мають виражену нефропротекторну активність *при аутоімунному нефриті Хеймана (АІН)* у щурів. Застосування цих засобів сприяє відновленню функціональної активності нирок, що підтверджується покращенням показників швидкості клубочкової фільтрації

(ШКФ) та зниженням рівнів креатиніну та сечовини в крові. За виразністю нефропротекторного ефекту БКБЗ можна розташувати у наступній послідовності: КС-МСК (ШКФ: 856 ± 59 мкл/хв) > КЕС (ШКФ: 551 ± 43 мкл/хв) > КЕП (ШКФ: 504 ± 19 мкл/хв). При цьому КС-МСК найефективніше знижує протеїнурію (65,8%, $p < 0,001$) та відновлює кліренс креатиніну (123,4%, $p < 0,001$), порівняно з іншими препаратами. Також відзначено, що на тлі аутоімунного нефриту (АІН) відбувається значне збільшення вмісту ейкозаноїдів у тканинах нирок: простагландин Е2 (ПГЕ2) зріс у 2,9 рази, тромбоцитарний тромбосан В2 (ТхВ2) – у 5,5 рази, лейкотрієн В4 (ЛТВ4) – у 10,5 разів. Застосування БКБЗ сприяє зниженню цих показників, причому найбільше зниження ЛТВ4 (42,9%, $p = 0,005$) спостерігається при введенні КЕП, а ПГЕ2 і ТхВ2 значно зменшуються при застосуванні КС-МСК (43,5% і 44,4% відповідно, $p < 0,001$). Оцінка впливу на гіперактивність індукцйбельної оксиду азоту (NO) синтази (iNOS) і активність конституційної NO-синтази (cNOS) показала, що КС-МСК найефективніше нормалізує ці показники, знижуючи гіперактивність iNOS на 54,5% ($p < 0,001$) і активність cNOS на 57,9% ($p = 0,05$), що підтверджує його значний терапевтичний потенціал у лікуванні нефриту Хеймана.

Введення БКБЗ на тлі *аутоімунного гепатиту (АІГ)* у щурів сприяло значному покращенню пігментного обміну – у щурів, яким вводили КС-МСК, спостерігалось зниження рівня загального білірубіну на 52,6% ($p < 0,001$), для КЕП – на 49,6% ($p < 0,001$), а для КЕС – на 40,2% ($p < 0,001$). Це вказує на високу ефективність БКБЗ у нормалізації порушень пігментного обміну. Застосування досліджуваних БКБЗ призвело до виразного ослаблення ознак цитолітичного синдрому у щурів з АІГ. Найвиразніше рівень аланінамінотрансферази (АлАТ) знизився на тлі застосування КЕП та КС-МСК – активність вказаного ензиму знизилась відповідно на 35,0% ($p < 0,05$) в обох випадках, активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) найвиразніше статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на тлі застосування КС-МСК. Найвиразніше зниження активності гамма-глутамілтрансферази (γ -ГТП)

відмічено на тлі введення КЕП та КС-МСК – активність знизилась відповідно на 27,1% ($p=0,024$) та на 27,4% ($p=0,012$) відносно показників щурів контрольної групи. Найвиразніше зниження активності лужної фосфатази (ЛФ) у щурів з АІГ відмічено на тлі введення КС-МСК – на 27,9% ($p=0,009$) відносно показників нелікованих щурів з АІГ. Також встановлено, що на тлі застосування КС-МСК рівень загального білка (ЗБ) статистично вірогідно ($p<0,001$) зріс на 20,2% відносно показників тварин групи контролю та становив $72,1\pm 1,6$ г/л, що на 14,3% статистично вірогідно перевищувало ($p=0,01$) аналогічний показник тварин, яким вводили референс-препарат силібор. За здатністю відновлювати рівень альбумін-глобулінового співвідношення (А/Г) у щурів з АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у наступній послідовності: КЕС (72,9%; $p=0,003$) > КС-МСК (51,7%; $p=0,005$) > КЕП (36,2%; $p=0,009$).

За здатністю відновлювати баланс у системі перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – антиоксидантної системи (АОС) при АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у наступній послідовності (% зростання антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$). За здатністю відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах щурів з АІГ досліджувані БКБЗ доцільно розташувати у наступній послідовності (за % зміни рівня аденілатного енергетичного заряду (АЕЗ) відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (+65,8%; $p<0,001$) > КЕП (+41,7%; $p<0,01$) > КЕС (+37,3%; $p<0,01$).

Аналіз змін у клітинному циклі гепатоцитів показав, що застосування БКБЗ сприяло усуненню порушень, індукованих АІГ. Згідно з результатами ДНК-цитометрії, було зафіксовано значне зменшення частки гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1), при цьому найбільш виражене зменшення спостерігалось у групі КС-МСК (71,2%; $p<0,001$), потім у групах КЕП (50,0%; $p<0,001$) та КЕС (45,4%; $p<0,001$).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що в дисертації вперше в Україні комплексно досліджено ефективність використання безклітинних біологічних засобів для лікування аутоімунних захворювань. Наукову новизну дисертації визначають, зокрема, такі положення:

вперше:

- комплексно розкрито ефекти від застосування безклітинних біологічних засобів (КЕП, КЕС та КС-МСК) при різних аутоімунних захворюваннях, що дає змогу обґрунтувати доцільність їх застосування при лікуванні патологій із аутоімунною основою;
- визначено механізми їх дії в контексті специфічних аутоімунних патологій (ревматоїдний артрит, алергічний енцефаломієліт, аутоімунний тиреоїдит, міокардит, нефрит, гепатит), що дозволяє оцінити ефективність терапії у межах кожної окремої нозології;
- запропоновано новий підхід до лікування аутоімунних захворювань із використанням безклітинних біологічних засобів;

удосконалено:

- розуміння механізмів дії безклітинних біологічних засобів при аутоімунних захворюваннях, що дозволяє на новому рівні оцінювати їх терапевтичний потенціал;
- оцінку впливу безклітинних біологічних засобів на тиреотропну активність при аутоімунних захворюваннях щитоподібної залози, що дозволяє оцінювати ефективність терапії за допомогою нових імунологічних критеріїв;
- підходи до визначення кардіопротекторної та нефропротекторної активності безклітинних біологічних засобів, що дозволяє вдосконалити методи оцінки їх ефективності в контексті лікування аутоімунних патологій;

набули подальшого розвитку:

- теоретичні положення про патогенез і механізми аутоімунних захворювань на молекулярному та клітинному рівнях, що дозволяє краще розуміти основні принципи їх лікування та впливу на різні органи та тканини;

- підходи до оцінки метаболічних змін у тканинах при застосуванні безклітинних біологічних засобів, зокрема в печінці, серці, нирках, головному мозку;
- сучасні уявлення щодо комплексного підходу до використання безклітинних біологічних засобів для корекції порушень, що супроводжують аутоімунні захворювання, з урахуванням мультифункціональних ефектів таких препаратів.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному дослідженні положення, мають теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані в:

- *освітньому процесі* – як основа для розширення відомостей про імуномодельючі, протизапальні, нейропротективні, тиреотропні, кардіопротективні, нефропротективні та гепатозахисні властивості КЕП, КЕС та КС-МСК;
- *практичній діяльності закладів охорони здоров'я* – для розширення показань до медичного застосування препаратів з КЕП, КЕС та КС-МСК;
- *науково-дослідній діяльності* – для проведення подальших поглиблених наукових досліджень імуномодельючих та органопротективних властивостей КЕП, КЕС та КС-МСК.

Ключові слова: алергічний енцефаломієліт, аутоімунний гепатит, аутоімунний міокардит, аутоімунний нефрит, аутоімунний тиреоїдит, аутоімунні захворювання, біохімічні дослідження, безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби, кондиціоноване середовище, кріоекстракт плаценти, кріоекстракт селезінки, мезенхімальні стовбурові клітини, ультразвукові дослідження, імунологічні дослідження, ревматоїдний артрит

ANNOTATION

Hladkyh F.V. Pathogenetic substantiation of the use of cryopreserved cell-free biological agents in the experimental therapy of autoimmune diseases. Qualification scientific work published as manuscript.

Thesis for the degree Doctor of Medical Sciences in I – Health and social security in the specialty I2 – Medicine (scientific specialty 14.03.08 – Immunology and allergology). V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2025. – 509 p.

The dissertation is dedicated to an innovative approach to solving the problem of the effectiveness and safety of therapy for autoimmune diseases by developing new therapeutic strategies based on the newly established mechanisms of action of cell-free biological agents in experimental rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, thyroiditis, myocarditis, membranous nephropathy, and hepatitis.

The research was conducted on 252 outbred laboratory rats at the vivarium of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

The goal of the work is the experimental substantiation of improving the effectiveness and safety of drug therapy for autoimmune diseases by studying the complex mechanisms of action of cell-free cryopreserved biological agents.

To achieve this goal, the following tasks need to be **addressed**:

1. Characterize the anti-inflammatory and analgesic activity of cell-free biological agents in the adjuvant arthritis model in rats, and examine the alterations in eicosanoid levels and the cytokine profile upon their administration.

2. Assess the dynamics of neurological deficit and the impact of cell-free biological agents on metabolic changes in the brains of rats with allergic encephalomyelitis.
3. Evaluate the neuroprotective effects of cell-free biological agents in experimental allergic encephalomyelitis by observing changes in brain metabolism and energy processes.
4. Determine the changes in thyroid hormone levels and antibodies to thyroglobulin following the administration of cell-free biological agents in the autoimmune thyroiditis model, as well as their influence on the immunoglobulin profile.
5. Investigate the cardioprotective effects of cell-free biological agents on the morphostructural alterations in the myocardium and the antioxidant-prooxidant homeostasis in cardiac tissues during autoimmune myocarditis.
6. Examine the effects of cell-free biological agents on renal function and the levels of prostaglandin E2, thromboxane B2, and leukotriene B4 in experimental autoimmune nephritis.
7. Study the influence of cell-free biological agents on disturbances in pigment metabolism, cytolytic processes in the liver, and their effects on the protein-synthesizing function of the liver in experimental autoimmune hepatitis.
8. To evaluate the antioxidant-prooxidant homeostasis in liver tissues, the state of energy metabolism, and changes in the hepatocyte cell cycle in autoimmune hepatitis after administration of cell-free biological agents.

Object of the study – the development of new approaches to optimizing the therapy of autoimmune diseases.

Subject of the study – the biological properties of cryopreserved cell-free biological agents (cryoextract of placenta, cryoextract of spleen, conditioned medium of mesenchymal stem cells).

It has been established that cell-free cryopreserved biological agents (CFCBAs) exhibit high anti-inflammatory activity in the **adjuvant arthritis (AA) model** in rats. The administration of cryoextract of placenta (CEP) resulted in a 25.1% reduction in the volume of the affected limb ($p<0.001$), cryoextract of spleen (CES) led to a 20.0% reduction ($p<0.001$), and MSC-CM resulted in a 22.0% decrease ($p<0.001$) on the 28-th day of the experiment compared to the 14th day. The decrease in leukocyte levels was as follows: 53.4% for MSC-CM, 39.9% for CEP, and 32.4% for CES. The reduction in erythrocyte sedimentation rate (ESR) was: 69.0% for MSC-CM, 52.7% for CES, and 19.6% for CEP ($p<0.001$). The level of C-reactive protein decreased by: 54.5% (MSC-CM, $p<0.01$), 27.3% (CEP, $p<0.01$), and 18.2% (CES, $p<0.01$). Changes in eicosanoid levels included: prostaglandin (PG) E2 decreasing by 24.8% (MSC-CM, $p<0.05$), thromboxane (Tx) B2 by 30.3% (MSC-CM, $p<0.01$), and leukotriene (LT) B4 by 25.6% (MSC-CM, $p<0.01$). The level of pro-inflammatory cytokines also decreased: interleukin (IL)- 1β by 42.2% (CES, $p<0.001$), IL-17 by 31.0% (MSC-CM, $p<0.001$), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) by 10.8% (CEP, $p=0.1$). The reduction in anti-inflammatory cytokines included: IL-4 decreasing by 31.3% (CEP, $p=0.004$) and IL-10 by 20.5% (CES, $p=0.02$). The evaluation of analgesic activity showed that at the spinal level of nociception, CEP and MSC-CM exhibited comparable analgesic activity, which was 43.1% and 42.7%, respectively. At the supraspinal level of nociception, the most pronounced analgesic activity was observed in MSC-CM, which was 54.8%. Thus, CFCBAs demonstrated significant therapeutic potential in correcting inflammatory processes in autoimmune diseases (AIDs).

The use of CFCBAs contributed to the improvement of motor and cognitive functions in rats with **autoimmune encephalomyelitis (AEM)**. Specifically, the administration of MSC-CM resulted in the preservation of muscle tone at baseline levels and the restoration of motor activity by 368.6%. The most significant recovery in exploratory activity was observed in the group receiving MSC-CM (+347.1%, $p<0.01$). Treatment with CEP also improved motor (286.1%) and emotional activity,

although the effects were less pronounced compared to MSC-CM. The administration of CES restored motor activity by 102.0% and emotional activity by 150.0%, though these changes did not reach statistical significance. Based on the obtained results, it can be concluded that all the studied CFCBAs contribute to the improvement of neurological status in AEM, with MSC-CM showing the most pronounced effect.

Treatment with CFCBAs contributed to the improvement of metabolic processes in the brains of rats with AEM. The administration of MSC-CM led to a decrease in lactate levels to $3.0 \pm 0.16 \mu\text{mol/g}$ ($p < 0.001$) and an improvement in pyruvate metabolism. Furthermore, treatment with MSC-CM reduced the lactate/pyruvate ratio to 11.0 [8.0; 11.3] ($p < 0.001$), indicating the normalization of energy processes. Treatment with CEP also positively affected pyruvate levels ($p < 0.001$), though the changes were smaller than those in the MSC-CM group. CEP led to an increase in malate levels to $0.30 \pm 0.03 \mu\text{mol/g}$ ($p = 0.024$), whereas CES did not affect this parameter. The most significant effect on the restoration of energy processes in the brain was observed with MSC-CM treatment, which confirms its high neuroprotective activity.

It has been proven that CFCBAs have a significant therapeutic effect in the treatment of ***autoimmune thyroiditis (AIT)***. Specifically, the administration of MSC-CM demonstrated a pronounced effect in reducing the levels of antibodies to thyroglobulin (anti-TG Abs), decreasing them by 13.9% ($p < 0.01$), indicating effective correction of autoimmune activity. The administration of CEP and CES also led to a reduction in antibody levels, but their effects were less pronounced compared to MSC-CM. Furthermore, treatment with MSC-CM contributed to a decrease in total T3 levels by 36.6% ($p < 0.001$) and T4 by 22.0% ($p < 0.001$), indicating the normalization of thyroid function. The administration of CEP and CES also resulted in a decrease in these indicators, but the effects were less pronounced. An important result was the improvement in the ratio of total to free T4, which increased by 62.3% ($p = 0.001$) after MSC-CM treatment, indicating the

restoration of hormonal balance. MSC-CM treatment was also accompanied by a reduction in immunoglobulin levels: immunoglobulin (Ig)A by 19.2% ($p=0.001$), IgM by 39.9% ($p<0.001$), and IgG by 44.3% ($p<0.001$), indicating improved immune response.

It has been demonstrated that the use of CFCBAs effectively corrects structural and functional heart impairments in ***autoimmune myocarditis (AIM)***. Administration of CEP reduced the thickness of the interventricular septum (IVS) by 18.7% ($p=0.001$), indicating its effectiveness in restoring structural changes in the heart. This exceeded the effect of cordarone, where IVS thickness decreased by 9.9% ($p=0.01$). CES also resulted in a statistically significant reduction in IVS thickness by 12.1% ($p=0.006$). Moreover, CEP decreased the left ventricular end-systolic volume (LVESV) by 62.0% ($p<0.001$), confirming a pronounced cardioprotective effect of the drug. In the CEP group, functional parameters significantly improved: the minute blood volume (MBV) increased by 97.5%, to 232 [227; 313] ml/min ($p=0.004$), and the ejection fraction (EF) rose to 80.1% ($p<0.001$). In the CES group, the improvement was less pronounced: MBV increased by 50.5% ($p=0.05$), and EF reached 60.4% ($p=0.01$), though the effect was statistically significant. At the same time, the restoration of antioxidant activity in the CEP and CES groups was significant: superoxide dismutase (SOD) activity increased by 47.3% (CEP, $p<0.01$) and 33.6% (CES, $p<0.05$), indicating a significant improvement in oxidative-reductive processes in the heart muscle. Furthermore, the antioxidant potential in the MSC-CM group increased by 65.2% ($p<0.001$), confirming the high level of cardioprotection provided by this therapy. This may be an important factor in preserving heart function in autoimmune diseases, especially in myocarditis, where inflammatory processes and oxidative stress are among the main mechanisms of damage.

It has been established that CFCBAs exhibit pronounced nephroprotective activity in ***Heymann's autoimmune nephritis (AIN)*** in rats. The use of these agents contributes to the restoration of kidney functional activity, as evidenced by the

improvement in glomerular filtration rate (GFR) and the reduction in blood levels of creatinine and urea. In terms of nephroprotective effect, CFCBAs can be ranked as follows: MSC-CM (GFR: 856 ± 59 $\mu\text{l}/\text{min}$) > CES (GFR: 551 ± 43 $\mu\text{l}/\text{min}$) > CEP (GFR: 504 ± 19 $\mu\text{l}/\text{min}$). Moreover, MSC-CM most effectively reduces proteinuria (65.8%, $p < 0.001$) and restores creatinine clearance (123.4%, $p < 0.001$) compared to the other agents. It was also noted that in the context of autoimmune nephritis (AIN), there was a significant increase in the content of eicosanoids in kidney tissues: prostaglandin E₂ (PGE₂) increased 2.9-fold, platelet thromboxane B₂ (TxB₂) increased 5.5-fold, and leukotriene B₄ (LTB₄) increased 10.5-fold. The use of CFCBAs contributed to the reduction of these indicators, with the most significant decrease in LTB₄ (42.9%, $p = 0.005$) observed after CEP administration, while PGE₂ and TxB₂ were significantly reduced with MSC-CM treatment (43.5% and 44.4%, respectively, $p < 0.001$). Assessment of the effect on the hyperactivity of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and the activity of constitutive nitric oxide synthase (cNOS) revealed that MSC-CM most effectively normalizes these indicators, reducing iNOS hyperactivity by 54.5% ($p < 0.001$) and cNOS activity by 57.9% ($p = 0.05$), confirming its significant therapeutic potential in the treatment of Heymann's nephritis.

The administration of CFCBAs in rats with ***autoimmune hepatitis (AIH)*** contributed to a significant improvement in pigment metabolism. In rats treated with MSC-CM, there was a 52.6% ($p < 0.001$) decrease in total bilirubin levels, 49.6% ($p < 0.001$) in the CEP group, and 40.2% ($p < 0.001$) in the CES group. This indicates the high efficacy of CFCBAs in normalizing pigment metabolism disorders. The use of the studied CFCBAs led to a marked reduction in the signs of cytolytic syndrome in rats with AIH. The most pronounced decrease in alanine aminotransferase (ALT) was observed with CEP and MSC-CM treatment – the enzyme activity decreased by 35.0% ($p < 0.05$) in both cases. Aspartate aminotransferase (AST) activity showed the most statistically significant decrease ($p < 0.001$) with MSC-CM treatment. The most significant reduction in gamma-glutamyltransferase (γ -GTP) activity was

observed with CEP and MSC-CM administration, with activity decreased by 27.1% ($p=0.024$) and 27.4% ($p=0.012$), respectively, compared to the control group. The most significant decrease in alkaline phosphatase (ALP) activity in rats with AIH was noted with MSC-CM treatment, where activity decreased by 27.9% ($p=0.009$) compared to untreated rats with AIH. It was also found that MSC-CM treatment significantly increased the total protein (TP) level by 20.2% ($p<0.001$) compared to the control group, reaching 72.1 ± 1.6 g/L, which was 14.3% ($p=0.01$) higher than the level in animals treated with the reference drug, Silybor. In terms of restoring the albumin-globulin ratio (A/G) in rats with AIH, the CFCBAs can be ranked as follows: CES (72.9%; $p=0.003$) > MSC-CM (51.7%; $p=0.005$) > CEP (36.2%; $p=0.009$).

The ability of CFCBAs to restore the balance in the lipid peroxidation (LPO) – antioxidant system (AOS) during autoimmune hepatitis (AIH) can be ranked as follows, based on the percentage increase in the antioxidant-prooxidant index (API) relative to the control group: MSC-CM (201.4%; $p=0.005$) > CEP (85.3%; $p=0.002$) > CES (57.5%; $p=0.1$).

In terms of restoring the energy balance in hepatocytes of rats with AIH, the CFCBAs can be ranked in the following order (based on the percentage change in adenylate energy charge (AEC) levels relative to the control group): MSC-CM (+65.8%; $p<0.001$) > CEP (+41.7%; $p<0.01$) > CES (+37.3%; $p<0.01$).

Analysis of changes in the hepatocyte cell cycle showed that the administration of CFCBAs helped restore disturbances induced by AIH. According to the DNA cytometry results, a significant reduction in the proportion of hepatocytes with fragmented DNA (SubG0G1) was observed. The most pronounced decrease was noted in the MSC-CM group (71.2%; $p<0.001$), followed by the CEP group (50.0%; $p<0.001$) and the CES group (45.4%; $p<0.001$).

The scientific novelty of the obtained results lies in the fact that, for the first time in Ukraine, the dissertation comprehensively investigates the effectiveness of

using cell-free biological agents for the treatment of autoimmune diseases. The scientific novelty of the dissertation is defined, in particular, by the following points:

for the first time:

- the effects of using cell-free biological agents (CEP, CES, and MSC-CM) in various autoimmune diseases are comprehensively revealed, which provides the basis for their therapeutic action in the treatment of autoimmune pathologies;
- the mechanisms of their action in the context of specific autoimmune pathologies (rheumatoid arthritis, allergic encephalomyelitis, autoimmune thyroiditis, myocarditis, nephritis, hepatitis) have been identified, which allows evaluating the effectiveness of therapy within each individual nosology;
- a new approach to the treatment of autoimmune diseases using cell-free biological agents has been proposed;

the following improvements have been made:

- an enhanced understanding of the mechanisms of action of cell-free biological agents in autoimmune diseases, allowing a new level of assessment of their therapeutic potential;
- an improved assessment of the impact of cell-free biological agents on thyroid-stimulating activity in autoimmune thyroid diseases, allowing the evaluation of therapy effectiveness through new immunological criteria;
- new approaches to determining the cardioprotective and nephroprotective activity of cell-free biological agents, which improves methods for evaluating their effectiveness in the context of autoimmune pathology treatment;

the following areas have been further developed:

- theoretical concepts regarding the pathogenesis and mechanisms of autoimmune diseases at the molecular and cellular levels, enhancing the

understanding of the main principles of their treatment and effects on various organs and tissues;

- approaches to assessing metabolic changes in tissues upon the use of cell-free biological agents, particularly in the liver, heart, kidneys, and brain;
- contemporary views on the integrated approach to using cell-free biological agents to correct the disturbances associated with autoimmune diseases, considering the multifunctional effects of such drugs.

The practical significance of the obtained results lies in the fact that the theoretical and applied concepts outlined in the dissertation can be utilized in:

- ***educational process*** – as a foundation for expanding knowledge about the immunomodulatory, anti-inflammatory, neuroprotective, thyroid-regulating, cardioprotective, nephroprotective, and hepatoprotective properties of CEP, CES, and MSC-CM.
- ***practical activities of healthcare institutions*** – for broadening the indications for medical use of preparations with CEP, CES, and MSC-CM.
- ***scientific research activities*** – for conducting further in-depth scientific studies on the immunomodulatory and organ-protective properties of CEP, CES, and MSC-CM.

Key words: allergic encephalomyelitis, autoimmune hepatitis, autoimmune myocarditis, autoimmune nephritis, autoimmune thyroiditis, autoimmune diseases, biochemical studies, acellular cryopreserved biological agents, cryoextract of placenta, cryoextract of spleen, conditioned medium, mesenchymal stem cells, immunological studies, rheumatoid arthritis, ultrasound studies

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus та/або Web of Science Core Collection

1. Гладких ФВ. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. *Клінічна та профілактична медицина*. 2023;6(28):121–130. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>. (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
2. Гладких ФВ. Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артрити: від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2023;11(4):326–36. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336). Режим доступу: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/387> (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
3. Гладких ФВ. Безклітинні біологічні засоби: фокус на кондиціоновані середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Одеський медичний журнал*. 2023;185(4):75–82. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15>. Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/65> (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
4. Гладких ФВ. Роль аутоімунних процесів при демієлінізуючих захворюваннях нервової системи: фокус на розсіяний склероз. *Міжнародний неврологічний журнал*. 2023;19(7):223–32. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.7.2023.1026>. Режим доступу: <https://inj.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/1026> (Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

5. **Гладких ФВ.** Імунопатологічні аспекти етіопатогенезу міокардиту. *Український кардіологічний журнал.* **2024**;31(1):103–12. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>. Режим доступу: <https://www.ucardioj.com.ua/index.php/UJC/article/view/354> (Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
6. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Аналгетичний потенціал кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. *Одеський медичний журнал.* **2024**;186(1):35–41. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-1-6>. Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/83> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
7. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Соловійов СО.** Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосуванні кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Клінічна та профілактична медицина.* **2024**;7(37):24–37. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.7.2024.03>. Режим доступу: <https://cp-medical.com/index.php/journal/article/view/470> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Соловійов С.О. – участь в обговоренні отриманих результатів, консультування при проведенні протокової ДНК-цитометрії. Видання

категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

8. **Гладких ФВ.** Оцінка впливу кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та кріоекстрактів біологічних тканин на прояви цитолітичного синдрому при експериментальному аутоімунному гепатиті. *Одеський медичний журнал.* **2024**;6(191):45–50. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8>. Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/172> (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
9. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на рівень протизапальних та регуляторних цитокінів при експериментальному аутоімунному артриті. *Східноукраїнський медичний журнал.* **2024**;12(4):937–45. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12\(4\):937-945](https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12(4):937-945). Режим доступу: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/711/375> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
10. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Чиж МО.** Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. *Український кардіологічний журнал.* **2024**;31(6):35–46. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>. Режим доступу: <https://ucardioj.com.ua/index.php/UJC/article/view/386> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. –

участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті, Чижя М.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

11. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* **2024**;32(3):275–89. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-01>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/67> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторя Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
12. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* **2024**;32(4):521–34. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/94>. (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторя Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних

джерел, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

13. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Стан NO-ергічного гомеостазу при експериментальному аутоімунному гломерулонефриті на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Нирки*. **2024**;13(3):203–12. DOI: <https://doi.org/10.22141/2307-1257.13.3.2024.465>. Режим доступу: <https://kidneys.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/465> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
14. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Ефективність безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при аутоімунному артриті за даними гематологічних змін. *Україна. Здоров'я нації*. **2024**;2(76):55–60. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.2/09>. Режим доступу: <https://journals.uzhnu.uz.ua/index.php/health/article/view/979> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
15. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Експериментальне вивчення нефропротекторних властивостей кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин при аутоімунній мембранозній нефропатії. *Україна. Здоров'я нації*. **2024**;3(77):106–14. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.3/17>. Режим доступу:

<https://journals.uzhnu.uz.ua/index.php/health/article/view/1049> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

16. **Гладких ФВ.** Оцінка орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Психіатрія, неврологія та медична психологія.* **2024**;11(2(24)):124–37. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/pnmp/article/view/24> (Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
17. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Матвеєнко МС.** Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Психіатрія, неврологія та медична психологія.* **2024**;11(4):361–378. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-26-02>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/pnmp/article/view/102> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь у зборі даних та інтерпретації отриманих результатів, участь у написанні тексту статті, редагування рукопису; Матвеєнко М.С. – підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

18. **Hladkykh FV**, Liadova TI, Komorovsky RR. Cell-free cryopreserved biological agents for cardiac protection in autoimmune myocarditis: a morphofunctional study. *Scripta Medica*. 2025; 6(2):233–43. DOI: <https://doi.org/10.5937/scriptamed56-56858>. Режим доступу: <https://aseestant.ceon.rs/index.php/scriptamed/article/view/56858>
(Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті, Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті). Фахове видання Боснії та Герцеговини. Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
19. **Hladkykh FV**, Liadova TI, Matvieienko MS, Karafulidi OV, Komorovsky RR. Advances in cardioprotective strategies: bridging traditional pharmacotherapy and regenerative medicine. *Scripta Medica*. 2025;56(3):521–35. DOI: <https://10.5937/scriptamed56-58719>. Режим доступу: <https://aseestant.ceon.rs/index.php/scriptamed/article/view/58719/28168>
(Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: підбір літературних джерел, редагування основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Матвеєнко М.С. – підбір літературних джерел, редагування основного тексту; Карафуліді О.С. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Фахове видання Боснії та Герцеговини. Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

20. **Гладких ФВ.** Сучасний концепт участі тиреоїдних антигенів та цитокінів у імунопатогенезі аутоімунного тиреоїдиту. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2023;4(84):22–31. DOI: <https://doi.org/10.30978/CEES-2023-4-22>. Режим доступу: <http://jcees.endocenter.kiev.ua/article/view/294328> Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
21. **Гладких ФВ.** Перспективи застосування імунomodуляторів у лікуванні хворих на аутоімунних захворювань: фокус на екстракти біологічних тканин (кріоекстракт плаценти та кріоекстракт селезінки). *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2023;4:29–46. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>. Режим доступу: <https://immunology.org.ua/index.php/journal/article/view/109/83> (Видання категорії Б).
22. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Порівняльна характеристика антифлогістичної активності кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного артриту. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина»*. 2024;1(69):53–9. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.69.9>. Режим доступу: <https://med-visnyk.uzhnu.uz.ua/index.php/med/article/view/290> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).
23. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у щурів зі змодельованим ад'ювантом Фрейнда артритом. *Health & Education*. 2024;1:32–40. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4>. Режим доступу: <https://journals.medacad.rivne.ua/index.php/health->

[education/article/view/109](#) (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

24. **Гладких ФВ.** Біохімічна оцінка активності запального процесу під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного артриту у щурів. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я.* **2024**;1(15):8–12. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-1>. Режим доступу: <https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/3169/3611> (Видання категорії Б).
25. **Гладких ФВ.** Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. *Health & Education.* **2024**;2:23–30. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4>. Режим доступу: <https://journals.medacad.rivne.ua/index.php/health-education/article/view/144> (Видання категорії Б).
26. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Дослідження впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на рівень прозапальних цитокінів при експериментальному аутоімунному артриті. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* **2024**;2:28–37. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2024.2-04>. Режим доступу: <https://immunology.org.ua/index.php/journal/article/view/125> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).
27. **Гладких ФВ.** Динаміка неврологічного дефіциту у щурів зі змодельованим еквівалентом розсіяного склерозу під впливом кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого

- середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Актуальні проблеми профілактичної медицини*. 2024;27:19–28. DOI: <https://doi.org/10.32782/2786-9067-2024-27-3>. Режим доступу: <https://journals.meduni.lviv.ua/index.php/appm/article/view/121> (Видання категорії Б).
28. **Гладких ФВ.** Функціональний стан нирок при експериментальному нефриті Хеймана на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2024;2(16):13–23. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-2-2>. Режим доступу: <https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/4369> (Видання категорії Б).
29. **Гладких ФВ.** Імунопатогенез мембранозної нефропатії та перспективи біологічної терапії: підводні камені та перли (огляд). *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024;3(77):11–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820820>. Режим доступу: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/1094> (Видання категорії Б).
30. **Гладких ФВ.** Імунні порушення при аутоімунному гепатиті: роль аутоантитіл, Т-рег клітин та новітні терапевтичні підходи. *Буковинський медичний вісник*. 2024;28(3):76–82. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.3.111.2024.13>. Режим доступу: <http://e-bmv.bsmu.edu.ua/article/view/313609> (Видання категорії Б).
31. **Гладких ФВ.** Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина»*. 2024;2(70):29–34. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.70>. Режим доступу: <https://med-visnyk.uzhnu.uz.ua/index.php/med/issue/view/13> (Видання категорії Б).
32. **Гладких ФВ.** Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосування кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Health & Education*.

- 2024;3:12–21. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.2>. Режим доступу: <https://journals.medacad.rivne.ua/index.php/health-education/article/view/180> (Видання категорії Б).
33. **Гладких ФВ.** Білковосинтезуюча функція печінки при аутоімунному гепатиті: оцінка впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів в експерименті. *Здоров'я суспільства*. 2024;13(1):20–8. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.13.1.2024.318>. Режим доступу: <https://nuozu.kyiv.ua/index.php/health-society/article/view/14> (Видання категорії Б).
34. **Гладких ФВ.** Оцінка рівня імуноглобулінів А, М і G на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2024;4(88):36–43. DOI: <http://doi.org/10.30978/CEES-2024-4-36>. Режим доступу: <http://jcees.endocenter.kiev.ua/article/view/319595> Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
35. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвєєнко МС, Коморовський РР.** Порівняльна характеристика морфофункціонального стану серця при застосуванні кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на моделі аутоімунного міокардиту за даними ультразвукового дослідження. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2024;4(18):27–36. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-4-4>. Режим доступу: <https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/4621> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Чижа М.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих

результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

36. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвєєнко МС, Коморовський РР. Ехокардіографічна оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки на функціональний стан міокарда при експериментальному аутоімунному міокардиті. *Здоров'я суспільства*. **2024**;14(2):16–24. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.14.2.2024.314>. Режим доступу: <https://nuozu.kyiv.ua/index.php/health-society/article/view/19> (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Чижа М.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Матвєєнко М.С. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію дисертації

37. **Гладких ФВ**. Характеристика пігментного обміну на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. **2024**;16(2):258–61. DOI: <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.02.258>. Режим доступу: <https://journals.chnu.edu.ua/biosystems/article/view/645> (*Видання категорії Б. Наукові читання «Актуальні питання сучасної біохімії крізь призму часу»; 31 жовтня 2024; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України).*
38. **Гладких ФВ**. Оцінка ефективності застосування кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні

- експериментального аутоімунного артриту. *Матеріали 93-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині та фармації»*; 28–30 березня 2024; Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; **2024**, с. 242. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964105>
39. **Гладких ФВ.** Динаміка неврологічного дефіциту на тлі застосування кріоекстрактів селезінки та плаценти при експериментальному алергічному енцефаломієліті. *Матеріали XXVIII конгресу студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»*; 8–10 квітня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 45. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10972506>
40. **Гладких ФВ.** Вміст простагландину E2 на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при ад'ювантному артриті у щурів. *Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині»*; 21–22 березня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2024**, с. 133–4. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964176>
41. **Гладких ФВ.** Вплив кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на м'язовий тонус у щурів з ад'ювант-індукованим експериментальним розсіяним склерозом. *Матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*; 22 березня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2024**, с. 198–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964238>
42. **Гладких ФВ.** Порівняльна характеристика супраспінального компоненту антиноцицептивної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного артриту. *Матеріали XXI Міжнародної наукової конференції студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»*; 18–19 квітня 2024; Харків: Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України; **2024**, с. 77–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10987152>
43. **Гладких ФВ.** Оцінка впливу безклітинних біологічних засобів на інтенсивність запального процесу за вмістом лейкотрієну B4. *Матеріали*

- Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку»; 9–12 квітня 2024; Одеса: Одеський національний університет імені І.І. Мечникова МОН України; 2024, с. 329–31. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10987593>
44. **Гладких ФВ.** Стан антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах серця на тлі введення кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному аутоімунному міокардиті. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Молодіжна наука – 2024»*; 17 травня 2024; Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 2024, с. 28–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12093412>
45. **Гладких ФВ.** Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на окремі біохімічні показники крові при експериментальному аутоімунному артриті. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «Перспективи та інновації у науці молодих вчених в умовах військового часу»*; 23 травня 2024; Харків: Державна установа «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» та ін.; 2024, с. 14–5. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12093618>
46. **Гладких ФВ.** Порівняльна характеристика нефротропної дії безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів за показниками функціональної активності нирок на моделі активного аутоімунного нефриту. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія»*; 23–24 жовтня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет України МОЗ України; 2024, с. 54–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14051834>
47. **Гладких ФВ.** Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у нирках щурів при аутоімунному нефриті Хеймана. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України»*; 24–25 жовтня 2024; Київ: Державна установа «Інститут громадського здоров'я

- імені О.М. Марзєєва НАМН України» та ін.; **2024**, с. 96–97.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.13998585>
48. **Гладких ФВ.** Вплив безклітинних біотехнологічних препаратів на клітинний цикл гепатоцитів на моделі аутоімунного гепатиту. *Матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»*; 17–18 жовтня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 132–3.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14049866>
49. **Гладких ФВ.** Порівняльна оцінка впливу кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на білковосинтезуючу функцію печінки на моделі аутоімунного гепатиту. *Матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*; 14 листопада 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет України МОЗ України; **2024**, с. 128–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14547640>
50. **Гладких ФВ.** Характеристика синтезу білка при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі введення кондиціонованого середовища мезехімальних стовбурових клітин. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку»*; 12–14 грудня 2024 р.; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України; **2024**, с. 47–50.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14941003>
51. **Гладких ФВ.** Оцінка гепатопротекторних властивостей безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів за інтенсивністю цитолітичного синдрому. *Збірник матеріалів I науково-практичної конференції «Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень»*; 3–4 грудня 2024 р.; Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; **2024**, с. 154–6.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14563056>
52. **Hladkykh FV.** Thyroprotective properties of conditioned medium from mesenchymal stem cells in experimental autoimmune thyroiditis. *The 5th International scientific-theoretical conference "Modern vision of*

- implementing innovations in scientific studies*"; February 14, 2025; Marseille **(France)**: European Scientific Platform; **2025**, p. 247–50. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14870581>
53. **Hladkykh FV**. Therapeutic potential of conditioned media from mesenchymal stem cells in regulating NO production in kidney disease. *Materials of the 4th International scientific-practical conference "Science in motion: classic and modern tools and methods in scientific investigations"*; February 21, 2025; Vinnytsia-Vienna **(Austria)**: International Centre Corporative Management & European Scientific Platform; **2025**, p. 1190–2. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14913939>
54. **Hladkykh FV**. Study of the therapeutic effects of placenta and spleen cryoextracts in an autoimmune thyroiditis model: changes in hormonal balance. *Materials of the VIII International scientific and practical conference "Theoretical and empirical scientific research: concept and trends"*; March 7 2025; Oxford **(United Kingdom)**: Oxford Sciences LTD & European Scientific Platform; **2025**, p. 361–3. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.078>
55. **Гладких ФВ**. Відновлення скоротливості міокарда за допомогою кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин в умовах експериментального аутоімунного міокардиту. *Матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»*; 15 травня 2025 р.; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2025**, с. 108–110. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15504630>
56. **Гладких ФВ**. Експериментальне дослідження терапевтичного потенціалу кріоекстрактів при аутоімунному ураженні міокарда. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Харків. Інновації у медицині: сучасні виклики та розвиток науки молодими вченими в умовах військового часу»*; 15–16 травня 2025 р.; Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» та ін.; **2025**, с. 14. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15658766>

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації

57. **Гладких ФВ.** Ревматоїдний артрит: імунологічні механізми, системні ускладнення та новітні терапевтичні стратегії. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 360 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.6>
58. **Гладких ФВ,** Лядова ТІ, Красносельський МВ, Матвеєнко МС, Рубльова ТВ, Рудас ІА. Мультиמודальність нейропротекції при черепно-мозкових травмах та неврологічних захворюваннях. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 264 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.2>
59. **Гладких ФВ,** Лядова ТІ, Чиж МО, Коморовський РР, Бабаєва ГГ, Матвеєнко МС. Кардіоселективність кріобіотехнологічних засобів у терапії серцево-судинних захворювань. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 376 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>
60. Кошурба ІВ, **Гладких ФВ,** Лядова ТІ, Чиж МО. Гепатопротекція: інноваційні стратегії та клінічні перспективи біотехнологічних підходів. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2025**. 176 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.1>
61. Чиж МО, Гальченко СЄ, **Гладких ФВ,** Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Белочкіна ІВ, Слета ІВ. Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби: технологія отримання та визначення складу. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2024**. 264 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2024.1>
62. Чиж МО, Гальченко СЄ, **Гладких ФВ,** Лядова ТІ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Беспалова ІГ, Белочкіна ІВ, Слета ІВ, Матвеєнко МС, Кошурба ІВ, Глоба ВЮ. Метаболічні, регенеративні та імунологічні властивості водно-сольових екстрактів кріоконсервованих тканин. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 304 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.5>
63. **Гладких ФВ,** Кошурба ІВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвеєнко МС. Ульцерогенність: стратегії превенції та новітні підходи до лікування виразкової хвороби шлунка. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 208 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.3>
64. **Гладких ФВ.** Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(3):414–439 DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>

Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/76>
(Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

65. **Гладких ФВ**, Белочкіна ІВ, Кошурба ІВ, Чиж МО. Сучасна гепатопротекція: наративний огляд існуючих підходів та перспективи використання біотехнологічних препаратів. *Сучасні медичні технології*. **2023**;3(58):58–65. DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.3\(58\).2023.9](https://doi.org/10.34287/MMT.3(58).2023.9).
Режим доступу: <https://medtech.mphu.edu.ua/article/view/295884>
(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: збір даних, аналіз та інтерпретація даних, редагування статті. Внесок співавторів: Белочкіної І.В. – збір, аналіз та інтерпретація даних; Кошурби І.В. – концепція та дизайн дослідження, збір, аналіз та інтерпретація даних, написання статті; Чиж М.О. – збір даних, редагування та остаточне затвердження статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
66. **Гладких Ф.В.** Лізис клітин циклами «заморожуванням-відтаювання» – перспективний підхід до створення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів – кріоекстрактів фрагментів органів ссавців. Матеріали Х науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»; 17–18 жовтня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 162–4. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14049968>
67. **Гладких ФВ**. Аутозапальний синдром, індукований ад’ювантами: імунопатогенез та новітні терапевтичні стратегії. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку»*; 12–14 грудня 2024 р.; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України; **2024**, с. 53–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14941177>

ЗМІСТ

	Стор.
АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	38
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ ТА СКОРОЧЕНЬ....	43
ВСТУП	45
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОЛОГІЮ, ПАТОГЕНЕЗ ТА ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА АУТОІМУННІ ЗАХВОРЮВАННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	64
1.1 Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артриту (РА): від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу.....	64
1.1.1 Посттрансляційні модифікації білків як передумови розвитку РА.....	65
1.1.2 Імунологічна роль ревматоїдного фактора у розвитку РА.....	69
1.1.3 Значення дендритних клітин у ініціації адаптивних імуних реакцій при РА.....	70
1.1.4 Імунологічні аспекти синовіту та гіперплазії синовії при РА.....	72
1.1.5 Стратегії лікування хворих на РА крізь призму імуних механізмів.....	74
1.2 Роль аутоімуних процесів при демієлінізуючих захворюваннях нервової системи.....	76
1.2.1 Сучасні уявлення про етіологію та фазовий перебіг розсіяного склерозу (РС).....	77
1.2.2 Імунологічний каскад розвитку РС.....	80
1.2.3 Патомеханізми запалення та нейродегенерації при РС	83
1.2.4 Терапевтичні мішені та перспективи безклітинної біологічної терапії при РС.....	86
1.3 Аутоімунне ураження щитоподібної залози.....	87
1.3.1 Ключові тиреоїдні антигени при аутоімуних захворюваннях (АІЗ) щитоподібної залози (ЩЗ).....	89
1.3.2 Аутоімунний тиреоїдит Грейвса та роль цитокінів у його імунопатогенезі.....	93

1.3.3 Імунологічне підґрунтя аутоімунного тиреоїдиту Хашимото.....	97
1.4 Особливості перебігу аутоімунного ураження серця.....	98
1.4.1 Сучасне уявлення про етіологічні чинники розвитку міокардиту.....	100
1.4.2 Провідні патогенетичні ланки та імунологічні механізми розвитку міокардиту.....	101
1.4.3 Імунологічні механізми як основа розвитку міокардиту.....	103
1.5 Аутоімунні механізми розвитку гломерулонефриту.....	108
1.5.1 Подоцити як клітини-«мішені» та цільові антигени при мембранозній нефропатії (МН).....	110
1.5.2 Імунопатогенез МН: роль системи комплементу та мембраноатакуючого комплексу.....	115
1.6 Імунопатогенез аутоімунного гепатиту (АІГ).....	119
1.6.1 Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при АІГ.....	120
1.6.2 Взаємодія між Т-reg та іншими клітинами при АІГ....	122
1.7 Перспективи застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів у комплексному лікуванні хворих на аутоімунну патологію.....	128
1.7.1 Кріоекстракт плаценти.....	134
1.7.2 Кріоекстракт селезінки.....	143
1.7.3 Кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК).....	147
Висновки до розділу 1.....	157
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	161
2.1 Об'єкт та предмети дослідження.....	161
2.1.1 Характеристика лабораторних тварин та біоетичні аспекти дослідження.....	162
2.1.2 Характеристика використаних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів (БКБЗ)	164
2.1.2.1 Технологія одержання КЕП.....	164
2.1.2.2 Технологія одержання КЕС.....	166
2.1.2.3 Технологія одержання КС-МСК.....	167
2.2 Експериментальні моделі аутоімунних захворювань.....	168
2.2.1 Модель експериментального ревматоїдного артрити..	170
2.2.2 Експериментальний алергічний енцефаломієліт.....	172
2.2.3 Модель аутоімунного тиреоїдиту.....	174

2.2.4 Експериментальний аутоімунний міокардит.....	176
2.2.5 Експериментальний аутоімунний нефрит.....	177
2.2.6 Модель аутоімунного гепатиту.....	179
2.3 Характеристика методик дослідження.....	182
2.3.1 Онкометрична оцінка протизапальної активності БКБЗ на моделі ад'ювантного артриту у щурів.....	182
2.3.2 Дослідження знеболюючої активності.....	182
2.3.2.1 Термічне подразнення (для рандомізації тварин).....	183
2.3.2.2 Механічне подразнення за Рендаллом- Селітто.....	184
2.3.2.3 Електроімпульсне подразнення.....	184
2.3.3 Вивчення неврологічного дефіциту.....	185
2.3.3.1 Оцінка м'язового тону на моделі алергічного енцефаломієліту у щурів.....	185
2.3.3.2 Дослідження поведінкових реакцій (тест «відкрите поле»).....	185
2.3.4 Цитофлуориметричні дослідження вмісту ДНК.....	186
2.3.5 Дослідження морфофункціонального стану серцево- судинної системи у щурів.....	187
2.3.6 Гематологічні, біохімічні та імунологічні дослідження.....	189
2.3.7 Методи статистичної обробки.....	196

РОЗДІЛ 3 ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ТЕРАПЕВТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА МОДЕЛІ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ У ЩУРІВ.....	198
3.1 Фармакологічна оцінка протизапальної та знеболюючої активності БКБЗ при експериментальному артриті.....	198
3.2 Гематологічні та біохімічні аспекти ефективності БКБЗ на моделі АА у щурів.....	205
3.3 Аналіз змін рівнів ейкозаноїдів на моделі АА при застосуванні БКБЗ.....	209
3.4 Зміни цитокінового профілю під впливом БКБЗ при АА у щурів.....	211
Висновки до розділу 3.....	218

РОЗДІЛ 4	ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ.....	221
4.1	Динаміка неврологічного дефіциту при змодельованому еквіваленті розсіяного склерозу на тлі застосування БКБЗ.....	221
4.2	Характеристика метаболічних змін у головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	230
4.3	Вплив БКБЗ на енергетичні процеси в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом...	238
	Висновки до розділу 4.....	244
РОЗДІЛ 5	ДОСЛІДЖЕННЯ ТИРЕОТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ ПРИ ЗМОДЕЛЬОВАНОМУ АУТОІМУННОМУ ТИРЕОЇДИТІ У ЩУРІВ.....	247
5.1	Зміни рівнів тиреоїдних гормонів і антитіл до тиреоглобуліну після застосування БКБЗ при АІТ.....	247
5.2	Вплив КЕП, КЕС та КС-МСК на імуноглобуліновий профіль у щурів з АІТ.....	256
	Висновки до розділу 5.....	263
РОЗДІЛ 6	КАРДІОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО МІОКАРДИТУ	266
6.1	Ультразвукова характеристика морфоструктурних та функціональних змін міокарда при застосуванні БКБЗ в умовах аутоімунного ураження серця.....	266
6.2	Оцінка антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу в тканинах серця при введенні БКБЗ на моделі аутоімунного міокардиту.....	283
	Висновки до розділу 6.....	287
РОЗДІЛ 7	ОЦІНКА НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО НЕФРИТУ.....	290

7.1 Функціональний стан нирок при експериментальному аутоімунному нефриті Хеймана на тлі введення БКБЗ.....	290
7.2 Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом БКБЗ.....	299
7.3 Стан NO-ергічного гомеостазу при змодельованому нефриті Хеймана на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	301
Висновки до розділу 7.....	305
РОЗДІЛ 8 ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ГЕПАТИТУ.....	307
8.1 Вплив БКБЗ на порушення пігментного обміну при АІГ.....	307
8.2 Цитолітичні процеси у печінці щурів з АІГ на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	310
8.3 Оцінка білковосинтезуючої функції печінки при АІГ у щурів на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	315
8.4 Антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз при АІГ у щурів після введення БКБЗ.....	319
8.5 Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному АІГ та введенні БКБЗ.....	323
8.6 Характеристика клітинного циклу гепатоцитів при застосуванні КЕП, КЕС та КС-МСК на моделі АІГ.....	326
Висновки до розділу 8.....	332
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ....	335
ВИСНОВКИ.....	371
ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	376
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	377
ДОДАТОК А Список публікацій здобувача.....	460
Апробація матеріалів дисертації.....	478
ДОДАТОК Б Перелік рисунків.....	480
ДОДАТОК В Перелік таблиць.....	483
ДОДАТОК Г Акти впровадження.....	490

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

А/Г	– альбумін-глобулінове співвідношення	ДМСО	– диметилсульфоксид
АА	– ад’ювантний артрит	ЕВ	– екстрацелюлярні везикули
АДФ	– аденозиндифосфорна кислота	ЕЗ	– енергетичний заряд
АЕЗ	– аденілатний енергетичний заряд	ЗБ	– загальний білок
АЕМ	– аутоімунний енцефаломієліт	ІЛ	– інтерлейкін
АІГ	– аутоімунний гепатит	ІПКіК	– Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
АІЗ	– аутоімунні захворювання	НАН	– НАН України
АІМ	– аутоімунний міокардит	КДД	– кінцево-діастолічний діаметр
АІТ	– аутоімунний тиреоїдит	КДО	– кінцево-діастолічний об’єм
АлАТ	– аланінамінотрансфераза	КЕП	– кріоконсервований екстракт плаценти
АМФ	– аденозинмонофосфорна кислота	КЕС	– кріоекстракт селезінки
АнА	– анагетична активність	КСД	– кінцево-сistolічний діаметр
анти-	– антитіла до	КС-	– кондиціоноване середовище МСК
CarP	карбамільованого білка	КСО	– кінцево-сistolічний об’єм
АОС	– антиоксидантна система	ЛЗ	– лікарські засоби
АПІ	– антиоксидантно-прооксидантний індекс	ЛПБР	– латентний період больової реакції
АсАТ	– аспаратамінотрансфераза	ЛШ	– лівий шлуночок (серця)
АТФ	– аденозинтрифосфорна кислота	Ме	– медіана
БКБЗ	– безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби	ММ	– маса міокарда
В	– вольт	МОН	– Міністерство освіти і науки України
в/м	– внутрішньом’язово	МСК	– мультипотентні стовбурові клітини
в/о	– внутрішньоочеревинно	НПЗЗ	– нестероїдні протизапальні засоби
в/шл	– внутрішньошлунково	ПБЧ	– поріг больової чутливості
ВТС	– відносна товщина стінки (лівого шлуночка)	ПГ	– простагландини
ГЕБ	– гематоенцефалічний бар’єр	ПЗА	– протизапальна активність
ГМ	– головний мозок	ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
ДК	– дендритні клітини	р/д	– раз на день
ДКМП	– дилатаційна кардіоміопатія	РА	– ревматоїдний артрит
		рис.	– рисунок

РС	– розсіяний склероз	CTL	– cytotoxic T lymphocyte
РФ	– ревматоїдний фактор	CVB3	– coxsackievirus B3
СОД	– супероксиддисмутаза	CXCL	– chemokine (C-X-C motif) ligand
СПЗСШ	– відсоток систолічного потовщення задньої стінки (лівого шлуночка)	DMARD	– disease-modifying antirheumatic drug
СПМ	– відсоток систолічного	HLA	– human leukocyte antigen
ШП	потовщення	HSP	– heat shock protein
	міжшлуночкової	Ig	– імуноглобулін
	перегородки	LQ	– верхня межа нижнього квартиля (lower quartile)
СЧВ	– системний червоний вовчак	m (SE)	– стандартна похибка середнього арифметичного
T3	– трийодтиронін	MHC	– major histocompatibility complex
T4	– тироксин	MMP	– matrix metalloproteinases
табл.	– таблиця	MyHC	– myosin heavy chain
ТБК-РП	– продукти, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою	NO	– монооксид нітрогену
ТГ	– тиреоглобулін	NOS	– NO-синтаза
ТМПД	– товщина міжшлуночкової перегородки	iNOS	– індукцйбельна NO-синтаза
ТМПС	– товщина міжшлуночкової перегородки в систолу	cNOS	– конститутивна NO-синтаза
ТПО	– тиреопероксидаза	PADi	– peptidyl arginine deiminase
ТТГ	– тиреотропний гормон	RANK-L	– receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
УО	– ударний об'єм	Th	– лімфоцити Т-хелери
ФВ	– фракція викиду	TLR	– toll-подібний рецептор
ФВк	– фракція вкорочення	T-reg	– регуляторні Т-клітини
ФНП-α	– фактор некрозу пухлин-α	TxB2	– тромбоксан B2
ХО	– хвилинний об'єм	UQ	– нижня межа верхнього квартиля (upper quartile)
ЦНС	– центральна нервова система	β1-AP	– β1-адреноцерецептор
ШКФ	– швидкість клубочкової фільтрації	γ-ГТП	– гамма- глутамілтранспептидаза
ЩЗ	– щитоподібна залоза		
95%ДІ:	– 95 % довірчий інтервал		
АСРА	– anti-citrullinated peptide antibodies		
APC	– antigen-presenting cell		
CD	– cluster designation		
COVID			
-19	– coronavirus disease 2019		

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Аутоімунні захворювання (АІЗ) являють собою гетерогенний за клінічними проявами клас імунопатологічних станів, які характеризуються розладами імунітету, викликають втрату аутоімунної толерантності організму та, як наслідок, – аномальну реактивність В- і Т-клітин, що призводить до пошкодження власних тканин [1]. На АІЗ хворіє близько 10% населення. Деякі дослідження показують, що поширеність АІЗ неухильно зростала протягом останніх кількох десятиліть [2]. Клінічно АІЗ проявляються у вигляді понад 80 захворювань, найпоширенішими з яких є ревматоїдний артрит (РА), системний червоний вовчак (СЧВ), розсіяний склероз (РС) та ін. [1, 3].

Сучасним стандартом лікування більшості АІЗ є імуносупресивні препарати, такі як кортикостероїди, проте тривале застосування цих засобів здатне викликати багато побічних ефектів, тому вкрай важливо знайти безпечні та ефективні альтернативи модуляції самотолерантності, як ключового фундаментального порушення імунної регуляції [4]. Крім того, з точки зору як прямих, так і непрямих витрат, вартість лікування хворих на АІЗ є відчутною для пацієнтів [5, 6].

Значущий прогрес у розвитку біотехнологій, фармакології та медицини відкриває нові можливості для впливу на функціонування окремих ланок імунної системи [7]. Так, біопрепарати, зазвичай антитіла, спрямовані на конкретний компонент імунної системи, починають активно використовуватися для лікування певних груп пацієнтів з АІЗ. Це перспективний крок до більш безпечної терапії, однак ефективність біологічних препаратів ще вивчається. В той же час, модуляцію активності імунної системи можна досягти шляхом введення ендогенних імуномодуляторів – олігопептидів, що активують імунну систему за рахунок посилення проліферації та стимуляції функції імунних клітин [7].

В останні десятиліття значна увага приділяється дослідженню ефективності застосування мезенхімальних стовбурових (стромальних) клітин (МСК) та їх похідних у лікуванні хворих на АІЗ [8]. Як відомо, МСК є мультипотентними дорослими стовбуровими клітинами, здатними до самовідновлення та диференціації в мезенхімальні лінії, такі як м'язи, кістки, жир і хрящі, а також у клітини немезенхімальних ліній, такі як нейрони та кератиноцити [9]. Проте варто зазначити, що диференціація МСК та здатність сприяти прямому відновленню тканин не є першочерговим механізмом їх терапевтичної ефективності, оскільки МСК не зберігаються в органах довше кількох годин або днів та поступаються паракринним та імуномодуючим шляхам їх ефекту *in vivo* [10]. На сьогодні у науковому співтоваристві формується консенсус щодо зміщення терапевтичного потенціалу МСК на їх паракринний механізм дії [11].

У низці досліджень продемонстрована ефективність застосування **культуральних середовищ, кондиціонованих МСК** [9]. Останнім часом все більше уваги приділяється екзосомам – мембранозв'язаним везикулам, що виробляються практично усіма типами клітин, вивільняються в культуральне середовище та відіграють роль месенджерів міжклітинної комунікації [12, 13].

Технічна складність та високі витрати, пов'язані з виробленням згідно з рекомендаціями належної виробничої практики (*Good Manufacturing Practice*) та процедурами регуляторного схвалення терапії МСК, створюють додаткові перешкоди для клінічного застосування [14]. В останні роки відбувається зміна погляду на МСК як на клітини, що безпосередньо сприяють утворенню нової тканини. Погляд на МСК як на «фабрики лікарських клітин», що виділяють різноманітні біоактивні молекули з трофічною та імуномодуючою активністю, спрямували дослідження МСК на вивчення їх секретому [15].

Дослідження показали, що **безклітинний секретом МСК**, який складається з широкого спектра факторів росту, цитокінів, хемокінів та позаклітинних везикул, демонструє плюрипотентний ефект [16]. Секретоми,

отримані з МСК, передусім включають позаклітинні везикули, такі як екзосоми, які є гетерогенною популяцією нанорозмірних везикул, обмежених ліпідним подвійним шаром, що забезпечують терапевтичний ефект від МСК [8, 17]. Екзосоми несуть нуклеїнові кислоти, включаючи мікроРНК і білки, які після секреції в позаклітинний простір зливаються з клітинними мембранами клітин-господарів, здійснюючи транскрипційні та посттрансляційні модифікації [8, 18].

Експерименти демонструють, що безклітинне кондиціоноване середовище або екзосоми, отримані з МСК, мають таку ж терапевтичну ефективність, як і застосування МСК [8]. Застосування секретому або екзосом зводить до мінімуму проблеми з безпекою введення живих МСК [19] та надає переваги, пов'язані з виробленням, зберіганням і можливістю надання готових фармацевтичних препаратів [8, 20, 21]. Дослідження терапевтичних засобів, створених на основі екзосом, демонструють їх конкретні переваги над клітинними препаратами. По-перше, везикули мають менший ризик утворення пухлин, аутоімунних реакцій і токсичних ефектів порівняно з клітинною терапією. По-друге, виробництво, стерилізація та зберігання менш складні, ніж для клітинних продуктів. По-третє, везикули є біологічно інертними, і на їхні біологічні властивості не впливатиме середовище *in vivo* [22].

Не менш перспективним напрямком у лікуванні АІЗ виступає використання ендогенних імуномодуляторів, які представлені в основному пептидами, виділеними зі спеціалізованих органів, епітеліальних тканин та крові тварин, зокрема свиней та великої рогатої худоби. Найбільшого поширення набули імуномодулятори на основі тимуса, селезінки, плаценти, лімфатичних вузлів та ін. [23].

КЕП вперше отримано науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (далі – ІПКіК НАН України), які розробили та впровадили в практику унікальну методику його тривалого зберігання у низькотемпературному середовищі [24, 25, 26]. Екстракт плаценти являє собою комплекс низькомолекулярних пептидів,

екстрагованих з плаценти, які включають різноманітні біологічно активні речовини, такі як імуноглобуліни (Ig), біоактивні пептиди та гормони, а також амінокислоти та мінерали [27].

Серед тканин ксеногенного походження у якості потенційного джерела імуномоделюючих похідних особливу увагу дослідників привертає селезінка, що зумовлено зосередженістю у ній 25% Т-клітин та 65% В-клітин від загального пулу лімфоцитів в організмі [28, 29]. Використання низьких температур у процесі переробки біологічної сировини сприяє повнішому руйнуванню клітин та їх мембран і зрештою виходу у розчин біологічно активних речовин [30].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках відомчої науково-дослідної роботи (НДР) кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування» (номер державної реєстрації 0123U105022, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, к мед. н., доцент Волобуєва О.В.). Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (витяг з протоколу № 17 від 2 жовтня 2023 р.).

Мета роботи: експериментальне обґрунтування підходів до підвищення ефективності та безпечності медикаментозної терапії аутоімунних захворювань шляхом вивчення комплексу механізмів дії безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів.

Задля досягнення поставленої мети потребують вирішення наступні **завдання:**

1. Охарактеризувати протизапальну та знеболюючу активність безклітинних біологічних засобів (КЕП, КЕС, КС-МСК) на моделі ад'ювантного артриту у щурів та дослідити зміни рівнів ейкозаноїдів і цитокінового профілю при їх застосуванні.
2. Визначити динаміку неврологічного дефіциту та вплив безклітинних біологічних засобів на метаболічні зміни в головному мозку щурів з алергічним енцефаломієлітом.
3. Оцінити нейропротекторну дію безклітинних біологічних засобів при експериментальному алергічному енцефаломієліті за змінами в метаболізмі головного мозку та енергетичних процесах.
4. Встановити зміни рівнів тиреоїдних гормонів та антитіл до тиреоглобуліну при введенні безклітинних біологічних засобів на моделі аутоімунного тиреоїдиту, а також вплив на імуноглобуліновий профіль.
5. Дослідити кардіопротекторні ефекти безклітинних біологічних засобів на зміну морфоструктури міокарда та антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у серцевих тканинах при аутоімунному міокардиті.
6. З'ясувати дію безклітинних біологічних засобів на функціональний стан нирок та рівні простагландину E2, тромбоксану B2 і лейкотрієну B4 при експериментальному аутоімунному нефриті.
7. Вивчити вплив безклітинних біологічних засобів на порушення пігментного обміну, цитолітичні процеси у печінці та їх ефекти на білковосинтезуючу функцію печінки при експериментальному аутоімунному гепатиті.
8. Оцінити антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах печінки, стан енергетичного обміну та зміни в клітинному циклі гепатоцитів при аутоімунному гепатиті після введення безклітинних біологічних засобів.

Об'єкт дослідження – розробка нових шляхів оптимізації терапії аутоімунних захворювань.

Предмет дослідження – біологічні властивості кріоконсервованих безклітинних біологічних засобів (кондиціоновані середовища, кріоекстракти органів і тканин ссавців).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що в дисертації вперше в Україні комплексно досліджено ефективність використання безклітинних біологічних засобів для лікування аутоімунних захворювань. Наукову новизну дисертації визначають, зокрема, такі положення:

вперше:

- комплексно розкрито ефекти від застосування безклітинних біологічних засобів (КЕП, КЕС та КС-МСК) при різних аутоімунних захворюваннях, що дає змогу обґрунтувати доцільність їх застосування при лікуванні патологій із аутоімунною основою;
- визначено механізми їх дії в контексті специфічних аутоімунних патологій (ревматоїдний артрит, алергічний енцефаломієліт, аутоімунний тиреоїдит, міокардит, нефрит, гепатит), що дозволяє оцінити ефективність терапії у межах кожної окремої нозології;
- запропоновано новий підхід до лікування аутоімунних захворювань із використанням безклітинних біологічних засобів;

удосконалено:

- розуміння механізмів дії безклітинних біологічних засобів при аутоімунних захворюваннях, що дозволяє на новому рівні оцінювати їх терапевтичний потенціал;
- оцінку впливу безклітинних біологічних засобів на тиреотропну активність при аутоімунних захворюваннях щитоподібної залози, що дозволяє оцінювати ефективність терапії за допомогою нових імунологічних критеріїв;

- підходи до визначення кардіопротекторної та нефропротекторної активності безклітинних біологічних засобів, що дозволяє вдосконалити методи оцінки їх ефективності в контексті лікування аутоімунних патологій;

набули подальшого розвитку:

- теоретичні положення про патогенез і механізми аутоімунних захворювань на молекулярному та клітинному рівнях, що дозволяє краще розуміти основні принципи їх лікування та впливу на різні органи та тканини;
- підходи до оцінки метаболічних змін у тканинах при застосуванні безклітинних біологічних засобів, зокрема в печінці, серці, нирках, головному мозку;
- сучасні уявлення щодо комплексного підходу до використання безклітинних біологічних засобів для корекції порушень, що супроводжують аутоімунні захворювання, з урахуванням мультифункціональних ефектів таких препаратів.

Основні наукові положення, що виносяться на захист:

1. Встановлено, що БКБЗ мають високу протизапальну активність на моделі АА у щурів. Застосування КЕП призвело до зменшення об'єму ушкодженої кінцівки на 25,1% ($p < 0,001$), КЕС – на 20,0% ($p < 0,001$), а КС-МСК – на 22,0% ($p < 0,001$) на 28 день експерименту порівняно з 14 днем. Зниження рівнів лейкоцитів було таким: 53,4% для КС-МСК, 39,9% для КЕП і 32,4% для КЕС. Зменшення ШОЕ становило: 69,0% для КС-МСК, 52,7% для КЕС і 19,6% для КЕП ($p < 0,001$). Рівень С-реактивного білка знизився на: 54,5% (КС-МСК, $p < 0,01$), 27,3% (КЕП, $p < 0,01$) і 18,2% (КЕС, $p < 0,01$). Зміни вмісту ейкозаноїдів: ПГЕ2 знизився на 24,8% (КС-МСК, $p < 0,05$), ТхВ2 на 30,3% (КС-МСК, $p < 0,01$) і ЛТВ4 на 25,6% (КС-МСК, $p < 0,01$). Рівень прозапальних цитокінів також знизився: ІЛ-1 β на 42,2% (КЕС, $p < 0,001$), ІЛ-17 на 31,0% (КС-МСК, $p < 0,001$) і ФНП- α на 10,8% (КЕП, $p = 0,1$). Зниження

рівнів протизапальних цитокінів: ІЛ-4 зменшився на 31,3% (КЕП, $p=0,004$) і ІЛ-10 на 20,5% (КЕС, $p=0,02$). Оцінка знеболюючої активності показала, що на спінальному рівні ноцицепції КЕП та КС-МСК проявляли співставну аналгетичну активність, яка становила 43,1% та 42,7% відповідно. На супраспінальному рівні ноцицепції найвиразнішу аналгетичну активність виявлено у КС-МСК, яка становила 54,8%. Таким чином, БКБЗ продемонстрували значний терапевтичний потенціал у корекції запальних процесів при РА.

2. Застосування БКБЗ сприяло покращенню моторних та когнітивних функцій у щурів з АЕМ. Зокрема, застосування КС-МСК призвело до збереження м'язового тону та відновлення рухової активності на 368,6%. Найбільше відновлення дослідницької активності спостерігалось в групі, що отримувала КС-МСК (+347,1%, $p<0,01$). Лікування КЕП також покращило рухову (286,1%) та емоційну активність, хоча ефекти були менш вираженими, порівняно з КС-МСК. Введення КЕС відновило рухову активність на 102,0%, а емоційну активність на 150,0%, хоча ці зміни не досягали статистичної значущості. Зважаючи на отримані результати, можна зробити висновок, що всі досліджувані БКБЗ сприяють поліпшенню неврологічного статусу при АЕМ, при цьому КС-МСК демонструє найвиразніший результат.

3. Лікування БКБЗ сприяло покращенню метаболічних процесів у головному мозку щурів з АЕМ. Застосування КС-МСК призвело до зниження рівня лактату до $3,0\pm0,16$ мкмоль/г ($p<0,001$) і покращення метаболізму пірувату. Крім того, лікування КС-МСК знизило співвідношення лактат/піруват до 11,0 [8,0; 11,3] ($p<0,001$), що свідчить про нормалізацію енергетичних процесів. Лікування КЕП також позитивно вплинуло на рівень пірувату ($p<0,001$), хоча зміни залишалися меншими, ніж у групі КС-МСК. КЕП сприяв підвищенню

рівня малату до $0,30 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p=0,024$), в той час як КЕС не вплинув на цей показник. Найбільший ефект щодо відновлення енергетичних процесів у мозку спостерігався при застосуванні КС-МСК, що підтверджує його високу нейропротективну активність.

4. Дослідження показало, що БКБЗ мають значний терапевтичний ефект у лікуванні АІТ. Зокрема, застосування КС-МСК продемонструвало виразний ефект у зниженні рівня АТ до ТГ, зменшивши їх на 13,9% ($p<0,01$), що свідчить про ефективну корекцію аутоімунної активності. Застосування КЕП та КЕС також призвело до зниження рівня антитіл, проте їх ефект був менш вираженим порівняно з КС-МСК. Крім того, лікування КС-МСК сприяло зниженню рівня загального ТЗ на 36,6% ($p<0,001$) і Т4 на 22,0% ($p<0,001$), що вказує на нормалізацію функції ЩЗ. Застосування КЕП і КЕС також призвело до зниження цих показників, але ефекти були менш вираженими. Важливим результатом є покращення співвідношення загального до вільного Т4, яке зросло на 62,3% ($p=0,001$) після лікування КС-МСК, що вказує на відновлення гормонального балансу. Лікування КС-МСК також супроводжувалося зниженням рівнів IgA на 19,2% ($p=0,001$), IgM на 39,9% ($p<0,001$) і IgG на 44,3% ($p<0,001$), що свідчить про покращення імунної відповіді. Отже, результати дослідження підтверджують високий терапевтичний потенціал КС-МСК у лікуванні АІТ, які нормалізують гормональний баланс та покращують імунну відповідь.
5. З'ясовано, що застосування БКБЗ ефективно коригує структурні та функціональні порушення серця при АІМ. Введення КЕП зменшило товщину міжшлуночкової перегородки (ТМПД) на 18,7% ($p=0,001$), що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін серця. Це перевищує ефект кордарону, де ТМПД зменшилася на 9,9% ($p=0,01$). КЕС також призвів до статистично значущого зменшення

ТМПД на 12,1% ($p=0,006$). Крім того, КЕП знизив кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка (КСО) на 62,0% ($p<0,001$), що підтверджує виражений кардіопротекторний ефект препарату. У групі КЕП значно покращилися функціональні показники: хвилинний об'єм (ХО) збільшився на 97,5%, до 232 [227; 313] мл/хв ($p=0,004$), а фракція викиду підвищилась до 80,1% ($p<0,001$). У групі КЕС спостерігалось менше покращення: ХО зріс на 50,5% ($p=0,05$), фракція викиду досягла 60,4% ($p=0,01$), але ефект був статистично значущим. Водночас, відновлення антиоксидантної активності спостерігалось на фоні лікування БКБЗ: КС-МСК відновив інтегральний показник антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу до $22,8\pm0,9$, що було значно вище за показники КЕП ($18,9\pm3,4$), КЕС ($17,1\pm2,0$) та кордарону ($16,2\pm2,5$). Таким чином, результати підтверджують високу ефективність БКБЗ, особливо КС-МСК, у лікуванні АІМ, чкі відновлюють як структурні, так і функціональні показники серця.

6. Визначено, що БКБЗ мають виражену нефропротекторну активність при аутоімунному нефриті у щурів. Застосування цих засобів сприяє відновленню функціональної активності нирок, що підтверджується покращенням показників ШКФ та зниженням рівнів креатиніну та сечовини в крові. За виразністю нефропротекторного ефекту БКБЗ можна розташувати у послідовності: КС-МСК (ШКФ: 856 ± 59 мкл/хв) > КЕС (ШКФ: 551 ± 43 мкл/хв) > КЕП (ШКФ: 504 ± 19 мкл/хв). При цьому КС-МСК найефективніше знижує протеїнурію (65,8%, $p<0,001$) та відновлює кліренс креатиніну (123,4%, $p<0,001$), порівняно з іншими препаратами. Також відзначено, що на тлі АІН відбувається значне збільшення вмісту ейкозаноїдів у тканинах нирок: ПГЕ2 зріс у 2,9 рази, ТхВ2 – у 5,5 рази, ЛТВ4 – у 10,5 разів. Застосування БКБЗ сприяє зниженню цих показників, причому найбільше зниження ЛТВ4 (42,9%, $p=0,005$) спостерігається при

введенні КЕП, а ПГЕ2 і ТхВ2 значно зменшуються при застосуванні КС-МСК (43,5% і 44,4% відповідно, $p < 0,001$). Оцінка впливу на гіперактивність iNOS і активність cNOS показала, що КС-МСК найефективніше нормалізує ці показники, знижуючи гіперактивність iNOS на 54,5% ($p < 0,001$) і активність cNOS на 57,9% ($p = 0,05$), що підтверджує його значний терапевтичний потенціал у лікуванні нефриту Хеймана.

7. Введення БКБЗ на тлі аутоімунного гепатиту (АІГ) у щурів сприяло значному покращенню пігментного обміну – у щурів, яким вводили КС-МСК, спостерігалось зниження рівня загального білірубіну на 52,6% ($p < 0,001$), для КЕП – на 49,6% ($p < 0,001$), а для КЕС – на 40,2% ($p < 0,001$). Це вказує на високу ефективність БКБЗ у нормалізації порушень пігментного обміну. Застосування досліджуваних БКБЗ призвело до виразного ослаблення ознак цитолітичного синдрому у щурів з АІГ. Найвиразніше рівень АлАт знизився на тлі застосування КЕП та КС-МСК – активність вказаного ензиму знизилась відповідно на 35,0% ($p < 0,05$) в обох випадках, активність АсАт найвиразніше статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на тлі застосування КС-МСК. Найвиразніше зниження активності γ -ГТП відзначено на тлі введення КЕП та КС-МСК – активність знизилась відповідно на 27,1% ($p = 0,024$) та на 27,4% ($p = 0,012$) відносно показників щурів контрольної групи. Найвиразніше зниження активності ЛФ у щурів з АІГ відмічено на тлі введення КС-МСК – на 27,9% ($p = 0,009$) відносно показників нелікованих щурів з АІГ. Також встановлено, що на тлі застосування КС-МСК рівень ЗБ статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 20,2% відносно показників тварин групи контролю та становив $72,1 \pm 1,6$ г/л, що на 14,3% статистично вірогідно перевищувало ($p = 0,01$) аналогічний показник тварин, яким вводили референс-препарат силібор. За здатністю відновлювати рівень А/Г-співвідношення у щурів з АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати

у такій послідовності: КЕС (72,9%; $p=0,003$) > КС-МСК (51,7%; $p=0,005$) > КЕП (36,2%; $p=0,009$).

8. Доведено, що за здатністю відновлювати баланс у системі ПОЛ-АОС при АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у послідовності (% зростання АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$). За здатністю відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах щурів з АІГ досліджувані БКБЗ доцільно розташувати у наступній послідовності (за % зміни рівня АЕЗ відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (+65,8%; $p<0,001$) > КЕП (+41,7%; $p<0,01$) > КЕС (+37,3%; $p<0,01$). Встановлено, що застосування БКБЗ сприяло усуненню порушень клітинного циклу гепатоцитів, індукованих АІГ. Згідно з результатами ДНК-цитометрії, було зафіксовано значне зменшення частки гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1), при цьому найбільш виражене зменшення спостерігалось у групі КС-МСК (71,2%; $p<0,001$), потім у групах КЕП (50,0%; $p<0,001$) та КЕС (45,4%; $p<0,001$).

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному дослідженні положення, мають теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані в:

- **освітньому процесі** – як основа для розширення відомостей про імуномодельючі, протизапальні, нейропротективні, тиреотропні, кардіопротективні, нефропротективні та гепатозахисні властивості КЕП, КЕС та КС-МСК;
- **практичній діяльності закладів охорони здоров'я** – для розширення покань до медичного застосування препаратів з КЕП, КЕС та КС-МСК;
- **науково-дослідній діяльності** – для проведення подальших поглиблених наукових досліджень імуномодельючих та органопротективних властивостей КЕП, КЕС та КС-МСК.

Результати роботи впроваджено в освітню, наукову та практичну діяльність закладів вищої освіти, наукових установ, приватних, державних та комунальних некомерційних підприємств (ДНП та КНП), підпорядкованих Міністерству охорони здоров'я України (МОЗ України), НАМН України та МОН України:

1. Національний університет охорони здоров'я ім. П.Л. Шупика МОЗ України (*Акт впровадження від 02.01.2025 р., протокол № 1*);
2. Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України (*Акт впровадження від 30.12.2024 р., протокол № 6*);
3. Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України (*Акт впровадження від 01.01.2025 р., протокол № 1*);
4. Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 03.01.2025 р., протокол № 63*);
5. Полтавський державний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 03.01.2025 р., протокол № 10*);
6. Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 17.01.2025 р., протокол № 10*);
7. Національний фармацевтичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 19.12.2024 р., протокол № 9*);
8. Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України (*Акт впровадження від 08.01.2025 р., протокол № 1*);
9. Одеський національний університет імені І.І. Мечникова МОН України (*Акт впровадження від 03.01.2025 р., протокол № 5*);
10. Ужгородський національний університет МОН України (*Акт впровадження від 20.01.2025 р., протокол № 6*);
11. Державне некомерційне підприємство «Інститут серця МОЗ України» (*Акт впровадження від 27.01.2025 р., протокол № 1*);
12. Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України (*Акт впровадження від 05.02.2025 р., протокол № 2*);
13. Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (*Акт впровадження від 30.01.2025 р., протокол № 1/1*);

14. Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» (*Акт впровадження від 13.01.2025 р., протокол № 1*);
15. КНП «Харківська міська поліклініка № 10 Харківської міської ради» (*Акт впровадження від 30.01.2025 р., протокол № 1*);
16. Сумський державний університет МОН України (*Акт впровадження від 07.01.2025 р., протокол № 7*);
17. Буковинський державний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 28.01.2025 р., протокол № 10; Акт впровадження від 22.04.2025 р., протокол № 8*);
18. Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 20.01.2025 р., протокол № 10*).

Методи дослідження. Задля вирішення завдань роботи розроблено комплексну програму дослідження, реалізація якої досягалась низкою методів:

1. **патофізіологічні методи** – для моделювання експериментальних АІЗ;
2. **гематологічні методи** – для оцінки змін з боку периферичної крові;
3. **біохімічні методи** – для дослідження тканинного метаболізму і функціонального стану органів-мішеней;
4. **імунологічні методи** – для аналізу змін імунного статусу організму;
5. **ультразвукові методи** – для дослідження функціонального стану серця;
6. **онкометричні методи** – для кількісної оцінки запальної реакції при АА;
7. **алгометричні методи** – для дослідження аналгетичної активності за умов термічного (тест теплової імерсії хвоста), механічного (тензоалгозиметрія) та електроімпульсного больового подразнення;
8. **нейрофункціональні тести** – для оцінки м'язового тону, моторної та емоційної активності тварин на моделі АЕМ;
9. **цитофлуориметричні методи** – для кількісного аналізу ДНК-вмісту клітин;
10. **статистичні методи** – для опрацювання отриманих даних та оцінки їх значущості (W-критерій Шапіро-Вілка, критерій Левена, t-критерій Ст'юдента, U-критерій Манна-Уїтні, T-критерій Вілкоксона).

Особистий внесок дисертанта. Дисертація є самостійним закінченим науковим дослідженням автора. Дисертантом визначено основний напрямок, мету та завдання дослідження; складено план роботи та розроблені її основні теоретичні і практичні положення. Автором проведено аналіз вітчизняних та закордонних публікацій за напрямком дослідження. Здобувачем самостійно проведено статистичне опрацювання первинних даних за допомогою стандартних статистичних методів і викладено в матеріалах дисертації у вигляді таблиць та графіків. Самостійно написані розділи дисертації. Дисертант спільно з науковим консультантом сформулював основні положення та висновки роботи. Підготовлено публікації за матеріалами дисертаційної роботи у періодичних фахових наукових виданнях.

У роботах, опублікованих у співавторстві з науковим консультантом д. мед. н., проф. Лядовою Т.І., а також з іншими науковцями з:

- Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (д. біол. н., ст. н. с. Гальченко С.Є., к. мед. н., старш. досл. Чиж М.О., к. біол. н., ст. н. с. Белочкіна І.В., к. біол. н., ст. н. с. Слета І.В., PhD Глоба В.Ю.);
- Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України (PhD, доц. Матвеєнко М.С.);
- Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» (д. мед. н., проф. Красносельський М.В., к. біол. н., ст. досл. Рубльова Т.В.);
- Національного університету охорони здоров'я ім. П.Л. Шупика МОЗ України (д. фарм. н., доц. Соловйов С.О.);
- Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України (д. мед. н., проф. Коморовський Р.Р.);
- Національної служби охорони здоров'я України (PhD Кошурба І.В.);
- закладів практичної охорони здоров'я (к. мед. н. Бизов В.В., к. біол. н. Беспалова І.Г., к. мед. н., Рогоза Л.А., Карафуліді О.В.), особистий внесок здобувача є визначальним.

Внесок здобувача при підготовці публікацій за темою дисертаційної роботи полягає:

- у роботах [31, 32, 33, 34, 35, 50, 51, 59, 60, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97] – у проведенні патентно-інформаційного пошуку, написанні тексту роботи та аналізі отриманих результатів;
- у роботах [36, 39, 44, 52, 53, 54, 56, 68, 70, 72, 73, 75, 87] – у розробці дизайну дослідження та проведенні експериментальних досліджень на моделі ад'ювантного артриту Пірсона, статистичній обробці результатів, написанні основного тексту та формулюванні висновків;
- у роботах [46, 47, 57, 69, 71, 88] – у розробці дизайну дослідження та проведенні експериментальних досліджень на моделі алергічного енцефаломієліту, статистичній обробці результатів, написанні основного тексту та формулюванні висновків;
- у роботах [42, 64, 82, 84] – у розробці дизайну дослідження та проведенні експериментальних досліджень на моделі аутоімунного тиреоїдиту, статистичній обробці результатів, написанні основного тексту та формулюванні висновків;
- у роботах [40, 48, 49, 55, 65, 66, 74, 85, 86, 89] – у розробці дизайну дослідження та проведенні експериментальних досліджень на моделі аутоімунного міокардиту, статистичній обробці результатів, написанні основного тексту та формулюванні висновків;
- у роботах [43, 45, 58, 61, 76, 77, 83] – у розробці дизайну дослідження та проведенні експериментальних досліджень на моделі аутоімунного нефриту Хеймана, статистичній обробці результатів, написанні основного тексту та формулюванні висновків;
- у роботах [37, 38, 41, 62, 63, 67, 78, 79, 80, 81, 90] – у розробці дизайну дослідження та проведенні експериментальних досліджень на моделі аутоімунного гепатиту, статистичній обробці результатів, написанні основного тексту та формулюванні висновків.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційного дослідження, теоретичні та практичні висновки та рекомендації були оприлюднені та доповідались на 20 вітчизняних та закордонних науково-практичних заходах (у тому числі 3 – у формі усної доповіді та 17 – у формі опублікування тез у збірнику матеріалів або статті):

1. 93 науково-практична конференція із міжнародною участю «Інновації в медицині та фармації» (28–30 березня 2024 р., **м. Івано-Франківськ**, Україна);
2. XXVIII конгрес «Майбутнє за наукою» (8–10 квітня 2024 р., **м. Тернопіль**, Україна);
3. VII Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині» (21–22 березня 2024 р., **м. Харків**, Україна);
4. IV Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (22 березня 2024 р., **м. Харків**, Україна);
5. XXI Міжнародна наукова конференція «Актуальні питання сучасної медицини» (18–19 квітня 2024 р., **м. Харків**, Україна);
6. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку» (9–12 квітня 2024 р., **м. Одеса**, Україна);
7. Науково-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю «Молодіжна наука – 2024» (17 травня 2024 р., **м. Вінниця**, Україна);
8. Науково-практична конференція молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів, присвячена Дню науки «Перспективи та інновації у науці молодих вчених в умовах військового часу» (23 травня 2024 р., **м. Харків**, Україна);
9. Міжнародна науково-практична конференція «Експериментальна та клінічна фармакологія» (23–24 жовтня 2024 р., **м. Харків**, Україна);
10. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України» (24–25 жовтня 2024 р., **м. Київ**, Україна);

11. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (17–18 жовтня 2024 р., **м. Тернопіль**, Україна);
12. Наукові читання «Актуальні питання сучасної біохімії крізь призму часу» (31 жовтня 2024 р., **м. Чернівці**, Україна);
13. VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (14 листопада 2024 р., **м. Харків**, Україна);
14. III Міжнародна науково-практична конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку» (12–14 грудня 2024 р., **м. Чернівці**, Україна);
15. I науково-практична конференція «Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень» (3–4 грудня 2024 р., **м. Вінниця**, Україна);
16. The 5th International scientific-theoretical conference "Modern vision of implementing innovations in scientific studies" (February 14, 2025; **Marseille, France**);
17. 4th International scientific-practical conference "Science in motion: classic and modern tools and methods in scientific investigations" (February 21, 2025; Vinnytsia-**Vienna, Austria**);
18. VIII International scientific and practical conference "Theoretical and empirical scientific research: concept and trends" (March 7, 2025; **Oxford, United Kingdom**);
19. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (15 травня 2025 р., **м. Харків**, Україна);
20. Науково-практична конференція молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Харків. Інновації у медицині: сучасні виклики та розвиток науки молодими вченими в умовах військового часу» (15–16 травня 2025 р., **м. Харків**, Україна).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 67 наукових робіт, з яких 56 висвітлюють основні наукові результати та 11 публікацій, які додатково відображають наукові результати дисертації.

З 56 основних наукових робіт налічується 37 статей, серед яких 19 – у рецензованих фахових періодичних виданнях, що включені до міжнародної наукометричної бази Scopus. З цих 19 статей: 2 – у закордонних виданнях та 9 – у рецензованих фахових періодичних виданнях України, індексованих у Scopus, за спеціальністю І2 – Медицина категорії А та 8 – у рецензованих фахових періодичних виданнях України, індексованих у Scopus, за спеціальністю І2 – Медицина категорії Б.

Крім того, опубліковано 27 статей в рецензованих фахових виданнях України за цією ж спеціальністю категорії Б та 1 статтю у фаховому виданні за спеціальністю Е1 – Біологія та біохімія, а також 19 тез (з них 3 – у збірниках закордонних конференцій та 16 – у збірниках матеріалів вітчизняних науково-практичних заходів).

Одноосібно опубліковано 39 наукових праць, з яких 20 статей (6 з яких опубліковані у виданнях, включених до наукометричної бази Scopus) та 19 тез.

Додатково наукові результати дисертації відображено у 11 наукових працях, серед яких 7 монографій, 2 статті у рецензованих фахових періодичних Scopus-індексованих виданнях України та 2 тези.

Структура та обсяг дисертації. Структура дисертації зумовлена її метою, задачами, об'єктом і предметом, а також логікою розкриття теми дослідження та викладенням його результатів. Робота складається із основної частини (вступу, восьми розділів, узагальнення, висновків та практичних рекомендацій), списку використаних джерел та 4 додатків. Загальний обсяг дисертації становить 509 сторінок, з яких 330 сторінок основного тексту. Роботу ілюструють 38 рисунків та 56 таблиць. Список використаних джерел займає 83 сторінки та складається з 698 найменувань, з яких 562 (80%) – закордонні та 136 (20%) – вітчизняні публікації.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОЛОГІЮ, ПАТОГЕНЕЗ ТА ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА АУТОІМУННІ ЗАХВОРЮВАННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Відповідно до того, які тканини чи органи є мішенню патологічної імунної відповіді, АІЗ поділяють як **системні**, такі як РА, системний червоний вовчак, системна склеродермія та ін., та **органоспецифічні**, такі як аутоімунний тиреоїдит, цукровий діабет 1 типу, аутоімунний міокардит, розсіяний склероз та ін. [98, 99]. АІЗ клінічно різноманітні, але мають спільну фундаментальну етіологію: наявність самореактивних Т-клітин та активацію вродженої імунної системи [100]. Хоча точний патогенез залишається неясним, цікаво відзначити, що генетичні, імунологічні, гормональні та фактори навколишнього середовища, є важливими тригерами аутоімунних захворювань [101].

1.1 Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артриту (РА): від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу

РА визначається як мультиетіологічне хронічне системне аутоімунне захворювання, пов'язане із запальним ураженням суглобів та позасуглобовими процесами у внутрішніх органах, включаючи серце, нирки, легені, травну систему, очі, шкіру та нервову систему [102, 103]. До гетерогенної групи аутоімунних ревматичних захворювань належать також системний червоний вовчак, синдром Шегрена, склеродермія у дорослих, спондилоартрит, псоріатичний артрит, поліміозит та ін., які є подібними за

патогенезом та симптомами [103, 104]. Ризик розвитку РА протягом життя становить 4% у жінок та 3% у чоловіків [105], що робить РА найпоширенішим аутоімунним запальним артритом із захворюваністю від 0,4% до 1,3% населення [106]. Клінічно при РА виділяють три яскраво виражені детермінанти: запальний процес (набряк, біль, скутість при рухах); проліферативно-деструктивний процес (руйнування суглобів) та ферментативний колагенолітичний процес (первинний некротизм) [107].

Формування РА вимагає двох умов: (1) генетичної схильності відповідного пацієнта, що призводить до генерації аутореактивних Т- і В-клітин, та (2) тригерної події, такої як вірусні та бактеріальні інфекції або пошкодження тканин, забезпечуючи активовані антигенпрезентуючі клітини для активації раніше згенерованих аутореактивних лімфоцитів, що призводить до порушення толерантності та подальшого руйнування тканин/органів [108]. Таким чином, РА, ймовірно, розвивається у генетично схильних осіб через поєднання генетичних варіацій, епігенетичної модифікації та факторів навколишнього середовища, ініційованих стохастичною подією (наприклад, травмою або інфекцією) [106]. Інфекція SARS-CoV-2, яка спричинила пандемію COVID-19, потенційно може сприяти розвитку РА, оскільки обидва захворювання мають подібні імунозапальні особливості патогенезу захворювання, що здійснюється аналогічними механізмами.

1.1.1 Посттрансляційні модифікації білків як передумови розвитку РА

РА правильно вважається імуніопосередкованим захворюванням із сильним генетичним впливом – генетичні фактори явно відіграють роль у ризику, тяжкості та прогресуванні РА. Найважливіший алель генетичного ризику для РА знаходиться в локусі головного комплексу гістосумісності II класу (*major histocompatibility complex – MHC II*), на який припадає близько 40% генетичного впливу. Співвідношення шансів розвитку РА в осіб з алелями HLA (*human leukocyte antigen*)-DR4 MHC класу II становить приблизно 5:1. Послідовність, пов'язана із захворюванням, зазвичай є глутамін-лейцин-

аргінін-аланін-аланін (QKRAA), яка присутня в деяких DR4 та DR14, на додаток до ланцюгів DR1 β [109]. Привертають увагу мутації, пов'язані з **пептидил-аргіназа деїміназою** (*peptidyl arginine deiminase* – **PADi**) та RTPN22.

PADi – це Ca²⁺-залежний фермент, який **перетворює аргінін на цитрулін**: позитивно заряджені залишки аргініну «власних» білків перетворюються на нейтральні залишки цитруліну, що призводить до сумарної втрати поверхневого заряду, підвищеної сприйнятливості цитрулінованих «власних» білків до деградації білка та генерації неоепітопів – нових потенційних антигенів, які зв'язуються з білками МНС, асоційованими з РА [105]. Розширений гаплотип PADi4 подовжує стабільність мРНК і, таким чином, може збільшити **цитрулінування пептидів** [109]. При РА PADi може секретуватися гранулоцитами та макрофагами [110]. У відповідь на цитруліновані білки В-клітини індукують вироблення **антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду** (*anti-citrullinated peptide antibodies* – **АСРА**). Наявність АСРА у сироватці крові пацієнтів з РА є одним із найбільш специфічних діагностичних маркерів захворювання. Поява АСРА зараз широко використовується для діагностики та прогнозування РА через його високу специфічність (>97%) у клінічній практиці, крім того АСРА можна виявити задовго до появи суглобових симптомів [110].

Окрім цитрулінування, **карбамілювання (гомоцитрулінування)** залишків лізину також сприяє утворенню неоепітопів з кількох «власних» білків (наприклад, колагену, фібриногену або віментину) і подальшого порушення імунологічної «власної» толерантності [111]. Імуноактивний вплив карбамілювання посилює артритогенні властивості цитрулінованих пептидів; ця властивість представляє новий механізм дії для патогенезу аутоімунного артрити [112]. **Антитіла до карбамільованого білка (анти-CarP)** можуть бути присутніми навіть у пацієнтів з РА, які є серонегативними для АСРА [113].

На сьогодні численні дослідження стверджують, що ініціація РА включає взаємодію між зовнішніми впливами та імунною системою, що проявляється особливо на слизових оболонках [114, 115, 116]. Три ділянки були пов'язані, зокрема, з РА, а саме: 1) легені, 2) слизова ротової порожнини та 3) шлунково-кишковий тракт (рис. 1.1.1 А). У людей запалення слизової оболонки (СО) порожнини рота, зокрема пародонтит, пов'язане з підвищеною сприйнятливістю до РА.

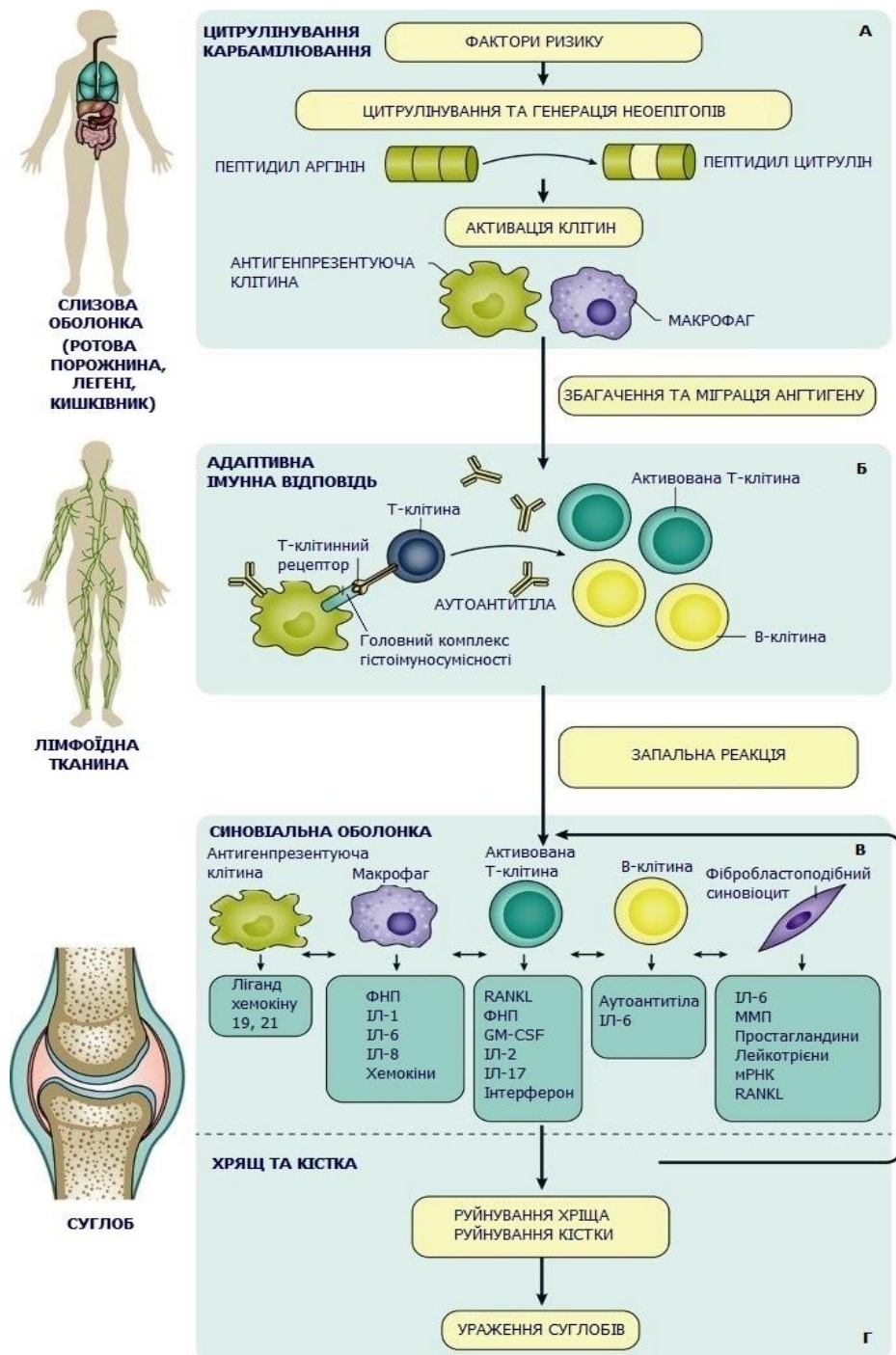


Рис. 1.1.1 Механізми, задіяні в ініціації та прогресії РА (адаптовано за [117])

Бронхоальвеолярна імуногістологія показує високі рівні цитрулінованих білків у легневих макрофагах, а куріння збільшує кількість таких цитрулінованих білків у рідині бронхоальвеолярного лаважу [118].

Існує достатньо доказів того, що три інфекційні агенти вважаються тригерами аутоімунітету при РА, а саме *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* та вірус Епштейна-Барра. У дослідженні **König M.F. та співавт.** [114] продемонстровано, що 47% (92/196) пацієнтів з РА показали ознаки попередньої інфекції *A. actinomycetemcomitans* порівняно з 11% у контрольній групі. *A. actinomycetemcomitans* може призводити до гіперцитрулінізації нейтрофілів та вивільнення цитрулінованих аутоантигенів у яснах [114].

P. gingivalis є найпоширенішою бактерією, яка викликає пародонтит. Оскільки відомо, що *P. gingivalis* експресує фермент PADi то вона здатна потенційно цитрулінувати пептиди в слизовій оболонці порожнини рота. Крім того, *P. gingivalis* або інші бактерії можуть діяти шляхом лігування Toll-подібного рецептора 2 (TLR2), що може збільшити вироблення інтерлейкінів (ІЛ)-1 та стимулювати локальну диференціацію клітин CD4⁺ Т-лімфоцитів (Th17) [115].

Кишковий тракт є ще одним органом СО, залученим до патогенезу РА, оскільки дисбактеріоз у пацієнтів з РА може бути результатом великої кількості певних рідкісних бактеріальних ліній. У товстій кишці види *Prevotella copri* були виявлені при дослідженні шлунково-кишкового мікробіому у пацієнтів на ранніх стадіях РА [116].

Поступове підвищення титру АСРА може тривати кілька років до появи симптомів суглобів, а імунна відповідь на аутоантигени може існувати за багато років до початку захворювання. Утворення цитрулінованих неоантигенів активує МНС 2-залежні Т-клітини, що, у свою чергу, допомагає В-клітинам виробляти більше АСРА. Ця фаза розвитку РА має назву тригерної або **фаза втрати (порушення) толерогенності** (див. рис. 1.1.1А). [110].

1.1.2. Імунологічна роль ревматоїдного фактора у розвитку РА

АСРА та **ревматоїдний фактор (РФ)** є найбільш вивченими аутоантитілами, залученими до РА. РФ – це сімейство низькоафінних поліреактивних аутоантитіл похідних від будь-якого ізотипу Ig. Частіше РФ є похідним від IgA, на частку яких припадає більшість ізотипів РФ при РА (які виявляється у 60–80% пацієнтів з РА) і рідше – від IgM та IgG [119, 120, 121], які виробляються CD5+ В-клітинами, та спрямовані проти Fc-частини інших Ig (зазвичай IgG) [122, 123]. Цікаво, що поява РФ у сироватці є послідовною до встановлення діагнозу РА: спочатку **РФ від IgM**, потім **РФ від IgA** і, нарешті **РФ від IgG** [124].

Оскільки концентрація IgG у сироватці приблизно в 5–10 разів перевищує концентрацію IgM та IgA, очевидним парадоксом є те, як РФ може циркулювати в крові пацієнтів із ревматоїдними захворюваннями разом з їх антигеном (IgG) у великих кількостях, не реагуючи з ним і не виводячись із кровообігу [123]. Співіснування РФ+ В-клітин та неаутоімунного антигену IgG у здорових суб'єктів свідчить про існування механізмів толерантності [121].

РФ, незважаючи на свою назву, не є специфічним для РА. Насправді РФ зазвичай виробляються під час імунізації та вторинної імунної відповіді на інфекції, щоб допомогти у видаленні збудника [125]. Інші ревматичні захворювання, такі як системний червоний вовчак, хвороба Шегрена та саркоїдоз, також пов'язані з наявністю РФ [126]. Крім того, серед здорових людей присутність РФ зростає з віком і перевищує 25% серед літніх осіб старше 85 років [125].

Тривалий час (до визначення ролі інших аутоантитіл, таких як АСРА, анти-CarP та ін.) лише РФ, зокрема ізотипи IgM та IgA у високих титрах, були єдиним добре відомим фактором, що прогнозує більш агресивні та ерозивні захворювання суглобів із більшою поширеністю позасуглобових проявів. Крім того, наявність РФ від IgM у сироватці пацієнтів робить клінічну ремісію менш

досяжною. Варто зазначити, що дослідження показали, що РФ пов'язаний з ранньою неефективністю метотрексату у пацієнтів з початковим РА [127].

Було висунуто низку гіпотез, щоб пояснити можливу ключову роль РФ у розвитку РА, включаючи його здатність збільшувати елімінацію імунних комплексів макрофагами [128]. Також було припущено, що РФ потенціює презентацію антигенів Т-клітинам за допомогою поглинання **дендритними клітинами (ДК)** імунних комплексів з екзогенними антигенами та за допомогою РФ В-клітин, які, здається, є більш ефективними антигенпрезентуючими клітинами, ніж інші В-клітини [128]. Участь РФ у формуванні імунного комплексу може призвести до подальшої фіксації комплементу та залучення клітин, що викликають запалення, таких як макрофаги, нейтрофіли та лімфоцити. Це призводить до пошкодження тканин і забезпечує позитивний зворотний зв'язок для вироблення ще більшої кількості аутоантитіл [107].

1.1.3. Значення дендритних клітин у ініціації адаптивних імунних реакцій при РА

Участь ДК у толерантності та аутоімунитеті є складною та двоспрямованою. Дійсно, ДК можуть сприяти толерантності за допомогою багатьох механізмів, зокрема через генерацію та підтримку регуляторних Т-клітин – Т-Reg (CD4+, CD25+, FOXP3+), а також через індукцію нереагування Т-клітин [129, 130]. І навпаки, здатність ДК до презентації антигену може сприяти праймінгу та/або ефекторній диференціації самореактивних Т-клітин. У запаленій синовіальній тканині при РА більшість антигенпрезентуючих клітин є повністю диференційованими ДК, які експресують високі рівні МНС класу I і II та коstimулюючі молекули Т-клітин [131].

У патогенезі РА беруть участь дві основні підгрупи ДК: звичайні/класичні ДК, та плазмоцитарні ДК. Звичайні ДК можна розділити на дві підгрупи: ДК1 та ДК2, які спеціалізуються на представленні ендогенного та екзогенного антигену як на МНС-I, так і на II, до CD8+ і CD4+ Т-клітин

відповідно [132]. Плазматичні ж ДК циркулюють у крові та периферичних органах і мають унікальну здатність швидко виробляти велику кількість інтерферонів I типу під час вірусної інфекції [132]. Накопичення звичайних ДК у периваскулярній ділянці синовіальної оболонки пацієнтів з РА може бути наслідком підвищеної експресії хемокинових рецепторів або їх специфічних лігандів у тканині. Причиною накопичення може бути міграція до дренуючих лімфатичних вузлів із запаленої тканини. Вважається, що локальний процес дозрівання опосередковує секвестрацію ДК в агрегатах лейкоцитів у запаленій тканині пацієнтів з РА [129]. Крім того, безклітинна синовіальна рідина хворих на РА сприяла дозріванню ДК з мієлоїдних клітин-попередників, надаючи прямі докази того, що запалене середовище суглоба РА сприяє зростанню ДК [131]. Потім зрілі класичні ДК можуть поляризувати наївні Т-лімфоцити в Th1 (CD4+), Th2, T-Reg або Th17 через секрецію різних наборів цитокінів [133]. Як звичайні ДК, так і плазматичні ДК сприяють патогенезу РА та прогресуванню захворювання шляхом секреції великої кількості цитокінів, включаючи фактор некрозу пухлин (ФНП; *tumor necrosis factor* – *TNF*), ІЛ-1, ІЛ-12, ІЛ-6, інтерферонів, а також факторів диференціації, включаючи фактор стимуляції колоній макрофагів (*macrophage colony-stimulating factor* – *M-CSF*) та фактор росту фібробластів (*fibroblast growth factor* – *FGF*) [134]. За даними **Segura E. та співавт.** [135] після хемотаксису до суглоба зрілі ДК виробляють цитокіни – ІЛ-12 та ІЛ-23, які стимулюють антиген-специфічні відповіді Th17, що призводить до дисбалансу між відповідями Th1, Th2 та Th17. У цьому контексті було припущено, що CD14+, CD1a+ та CD1c+ запальні ДК (локально диференціюються від моноцитів, що проникають у запалений суглоб) у синовіальній рідині відіграють важливу роль у патогенезі РА шляхом ефективної активації клітин Th17 у суглобах хворих на РА через їхнє вироблення ФНП- β , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-23 [135].

Враховуючи складну роль, яку ДК відіграють у патогенезі РА, спрямована на них терапія розробляється для блокування імуногенних або

посилення толерогенних функцій ДК [129, 136]. Аутологічні «толерогенні» ДК (толДК) отримують із власних міелоїдних попередників пацієнта з РА *ex vivo*, «завантажують» антигеном і маніпулюють для пригнічення аутореактивних Т-клітин, а потім вводять пацієнтам [129]. У клінічному дослідженні **Bell G.M. та співавт.** «*Autologous Tolerogenic Dendritic Cells for Rheumatoid and Inflammatory Arthritis (AuToDeCRA)*» [137] показано, що у змішаних культурах толДК домінують над зрілими, прозапальними ДК та знижують активацію Т-клітин [129, 137]. **Spiering R. та співавт.** [138] встановили, що попереднє «завантаження» толДК білками теплового шоку (пептиди, отримані з HSP-40/60/70 (*heat shock protein* – HSP) може бути перспективним інструментом для відновлення імунної толерантності у пацієнтів з РА шляхом перетворення HSP-специфічних CD4⁺ Т-клітин у протизапальні T-Reg [129].

1.1.4. Імунологічні аспекти синовіту та гіперплазії синовії при РА

Ураження суглобів при РА зазвичай проявляється синовітом, що виникає в симетричних дрібних суглобах. Набряк суглоба є зовнішнім відображенням запалення синовіальної оболонки після імунної активації – синовіальна оболонка, інфільтрована лейкоцитами, а синовіальна рідина заповнена прозапальними медіаторами, які взаємодіють, створюючи запальний каскад, який характеризується взаємодією фібробластоподібних синовіоцитів (див. рис. 1.1.1 В) з клітинами вродженої імунної системи, включаючи моноцити, макрофаги, тучні клітини, ДК та ін., а також з клітинами адаптивної імунної системи, такими як Т-лімфоцити (клітинно-опосередкований імунітет) та В-клітини (гуморальний імунітет). Дві імунні системи та їх взаємодія тісно залучені до розвитку АСРА-позитивного РА, що призводить до декомпенсації запального процесу – до розвитку хронічного синовіту [110].

Згідно з сучасними уявленнями, у синовіальній оболонці суглобів, уражених РА, аутореактивні Т-клітини активують макрофаги та фіброласти

через секрецію прозапальних медіаторів – ФНП- α , ІЛ-17, інтерферон- γ та активатор рецептора ліганду ядерного фактора κ B (*receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* – RANK-L). Активовані макрофаги, у свою чергу, виділяють велику кількість сильних прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6, які сприяють створенню та підтримці запального середовища в синовіальній оболонці. Вироблені В-клітинами аутоантитіла (АСРА та РФ) додатково викликають запалення шляхом прямої активації макрофагів або запуску каскаду комплементу. Крім того, RANK-L, що виробляється активованими фібробластами, сприяє диференціюванню остеокластів від макрофагів. Разом із матриксними металопротеазами (*matrix metalloproteinases* – MMP), остеокластами та антитілами, отриманими з фіброblastів, активовані нейтрофіли опосередковують залежне від запалення руйнування хряща та ерозію кісток (див. рис. 1.1.1 В,Г) [108].

Як відомо, синовіальні клітини суглобової оболонки підтримують стабільний стан суглоба шляхом виділення гіалуронової кислоти та лубрицину для змащування та функціонування суглобів. При РА дисфункція фібробластоподібних синовіоцитів призводить до **гіперплазії синовії** [110]. Аномальна проліферація фібробластоподібних синовіоцитів є результатом втрати контактного гальмування, яке відіграє вирішальну роль при РА, продукуючи запальні цитокіни та протеїнази, такі як MMP та тканинні інгібітори металопротеїназ (*tissue inhibitor of metalloproteinases* – TIMP), які сприяють руйнуванню суглобів. Вони створюють мікрооточення, яке забезпечує виживання Т-клітин та В-клітин, а також накопичення нейтрофілів [139].

Крім того, відомо, що розвиток РА супроводжується навколосуглобою та системною втратою кісткової тканини. Періартикулярна втрата кісткової тканини відноситься до клітинних змін субхондрального кісткового мозку, таких як диференціація остеокластів та утворення запальних інфільтратів. Відомо, що ФНП α , ІЛ-6, ІЛ-1 β , ІЛ-17 та інші запальні цитокіни, залучені до РА, можуть проявляти проостеокластогенну дію та пригнічувати формування

кісткової тканини опосередковано RANKL та M-CSF [140], які сприяють хемотаксису та диференціації моноцитів в остеокласти в контексті запалення, тоді як протизапальна терапія РА зупиняє прогресування пошкодження суглобів [110].

1.1.5. Стратегії лікування хворих на РА крізь призму імунних механізмів

До початку 1990-х років загальна стратегія лікування РА базувалась на ступеневій терапії, яка складалася з постільного режиму, прийому **нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ)** і, якщо ці методи лікування були неефективними, **протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу** (*disease-modifying antirheumatic drug* – **DMARD**). [141].

На сьогодні підходи до лікування хворих на РА поділяються на 4 основні стратегії: **(1) немедикаментозне лікування** (фізіотерапія, модифікація способу життя та хірургічна заміна уражених суглобів/кісток); **(2) застосування НПЗЗ** (зазвичай використовуються лише для симптоматичного лікування та/або до встановлення діагнозу РА, оскільки ці препарати зменшують біль і скутість у пацієнтів, але не впливають на прогресування захворювання); **(3) застосування глюкокортикоїдів** для неспецифічного пригнічення імунної системи має швидкий ефект модифікації захворювання, але його тривале використання обмежене через серйозні побічні ефекти; **(4) DMARD** використовуються для цілеспрямованого впливу на запалення та запобігання подальшому пошкодженню суглобів і прогресуванню захворювання [108, 110].

Доступні DMARD поділяються на **(1) звичайні синтетичні DMARD** (метотрексат, гідрохлорохін та сульфадіазин), **(2) цільові синтетичні DMARD** (інгібітори янус-кіназ – пан-JAK- та JAK1/2-інгібітори) та **(3) біологічні DMARD** [142, 143]. Біологічні DMARD – це генетично сконструйовані білкові молекули, що поділяються на кілька класів залежно від механізму дії, а саме:

- інгібітори ФНП- α (етанерцепт, інфліксимаб, голіумаб, адаліумаб, цертолізумаб пегол);
- деплетори В-клітин (ритуксимаб, офатумумаб);
- інгібітори В-клітинних рецепторів (беліумаб, атацицепт, табалумаб);
- антагоністи CD28 на Т-клітинах (абатацепт, белатасепт);
- інгібітори ІЛ-1 (анакінра, канакінумаб, рилонасепт);
- інгібітори ІЛ-6 (тоцилізумаб, сарилумаб, сирукумаб, олокізумаб, клазакізумаб);
- інгібітор ІЛ 12/23 (устекінумаб);
- інгібітори ІЛ -17 (іксекізумаб, секукінумаб, бродалумаб);
- інгібітор гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора (мавриліумаб, отилімаб);
- інгібітор RANKL (деносумаб) [103, 110, 142, 143, 144].

Перспективним терапевтичним підходом у лікуванні РА виступає застосування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) та їх похідних, як через їхню здатність диференціюватися в нові тканини, такі як кістки та хрящі, так і за рахунок їх імуносупресивних властивостей *in vitro* оскільки вони пригнічують активацію Т-клітин. Крім того, лікування МСК як у дослідженнях на тваринах, так і в клінічних випробуваннях у пацієнтів з РА, продемонструвало зниження прозапальної відповіді та пригнічення симптомів РА шляхом зниження рівнів у крові ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8 та ФНП- α [103, 108]. Враховуючи відсутність експресії МНС класу II та залишкову експресію МНС класу I, вважається, що мезенхімальні стромальні/стовбурові клітини мають імунні привілейовані властивості, і як такі можуть бути застосовані без врахування імуносумісності та/або імуносупресії [145].

Оцінка проявів артриту *in vivo* на моделі ад'ювантного артриту показала терапевтичний потенціал 3D-праймованого секретому з МСК тканини пуповини. Гістологічний аналіз підтвердив швидшу ремісію місцевих та системних проявів артриту у тварин, які отримували секретом з МСК, а стратегія застосування безклітинних біологічних засобів (секретом,

кондиціоновані середовища та ін.) представляє інноваційний підхід у лікуванні хворих на РА [146].

1.2 Роль аутоімунних процесів при демієлінізуючих захворюваннях нервової системи

Демієлінізуючі захворювання центральної нервової системи (ЦНС) – це гетерогенна група розладів, які характеризуються пошкодженням мієлінової оболонки аксонів нервових клітин ЦНС [147]. Вказані захворювання поділяють на первинну демієлінізацію (як самостійний патологічний стан) та вторинну демієлінізацію, яка спричинена супутніми відомими причинами, такими як інфекції, недостатнє харчування, дефіцитні захворювання або інтоксикація [148]. Основною репрезентативною групою первинних розладів демієлінізуючого спектра є **розсіяний склероз (РС)**, хвороби спектру оптиконевромієліту (*neuromyelitis optica spectrum disorder – NMOSD*), гострий розповсюджений енцефаломієліт (*acute disseminated encephalomyelitis – ADEM*) та захворювання, асоційовані з мієліново-олігодендроцитарним глікопротеїном (*myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease – MOGAD*). Інші прояви, такі як хвороба Марбурга (лейкодистрофія, *Marburg virus disease*), хвороба Шільдера (дифузний періаксіальний енцефаліт) та концентричний склероз Бало (енцефаліт періаксіальний концентричний), здебільшого вважаються специфічними варіантами цих захворювань [149]. Під час пандемії COVID-19 з'явилися випадки демієлінізуючих уражень як після інфекції SARS-CoV-2 [150], так і після вакцинації [151].

Хоча олігодендроцити є основним типом клітин, які беруть участь у мієлінізації, важливо підкреслити, що як мікроглія, так і астроцити регулюють вироблення та оновлення мієліну. Оскільки мієлінова оболонка є динамічною структурою, яка постійно виробляється, старі сегменти мієліну повинні бути знищені, щоб уникнути утворення дефектних оболонок або патологічних відкладень уламків мієліну в позаклітинному матриксі. Мікроглія, як первинні

фагоцитарні клітини ЦНС, є основними елементами, відповідальними за цю функцію. Астроцити, з іншого боку, забезпечують трофічну підтримку, вивільняють фактори, які стимулюють як диференціювання клітин-попередників в олігодендроцити, так і можуть індукувати рекрутинг і міграцію цих клітин у випадках ремієлінізації [147]. Найсуттєвішою проблемою зараз є розуміння того, що «пластичність мієліну», як поточний феномен обміну, здається, не залежить виключно від олігодендроцитів [152].

Зростаюче розуміння молекулярних механізмів того, як відбувається демієлінізація та ремієлінізація як у здорових людей під час старіння, так і за різних патологічних станів, збільшило інтерес до розробки терапевтичних підходів до ремієлінізації ЦНС у дорослих [153]. Одним з найпоширеніших демієлінізуючих захворювань у людей віком 20–40 років (із співвідношенням жінок та чоловіків 3:1, що свідчить про гормональний внесок у розвиток захворювання [154]), виступає РС, який зумовлений нейродегенерацією внаслідок аутоімунної атаки на мієлін ЦНС [155]. Патологічною ознакою РС є наявність вогнищевих демієлінізованих уражень із частковим збереженням аксонів та реактивним астрогліозом. Демієлінізовані бляшки (місця, де втрачається мієлін) присутні як у білій, так і в сірій речовині, наприклад, у корі головного мозку або мозочка та ядрах стовбура мозку. Про активність патологічного процесу свідчить наявність уражень із триваючим руйнуванням мієліну. Деструкція аксонів і нейронів є основним субстратом для постійного неврологічного дефіциту у пацієнтів з РС [156].

1.2.1. Сучасні уявлення про етіологію та фазовий перебіг РС

Від моменту першого опису РС 155 років тому (у 1893 р.) Charcot J.M. [157] і до теперішнього часу вказане захворювання вважається одним з основних за інвалідизацією пацієнтів. Ініціація РС характеризується декількома етіологічними чинниками – екологічними, інфекційними, генетичними, харчовими та епігенетичними компонентами, які потенційно можуть відігравати причинну роль у виникненні та перебігу захворювання

[158, 159]. Регіони з найвищою поширеністю РС знаходяться в Північній Америці та Європі [160]. За даними Міжнародної федерації РС (*Multiple Sclerosis International Federation – MSIF*; <https://www.msif.org/>) відмічається більша поширеність РС у регіонах, які знаходяться на вищих широтах (далі від екватора). Вважається, що це пов'язано зі зниженням сонячного світла/опромінення ультрафіолетом, частково пов'язаним із зниженням рівня вітаміну D. Результати аналізу даних нейроімунологічного реєстру MSBase (<https://www.msbase.org/>) [161] показали, що більш тяжкий РС пов'язаний із проживанням у вищих широтах (широти понад 40°), що включає більшу частину Європи, Канаду та північну половину США та південні частини Аргентини, Чилі та Нової Зеландії (рис. 1.2.1). Наприклад, люди з РС, які живуть у Копенгагені (Данія), мають більше шансів мати тяжкий РС, ніж люди, які живуть з РС у Мадриді (Іспанія).

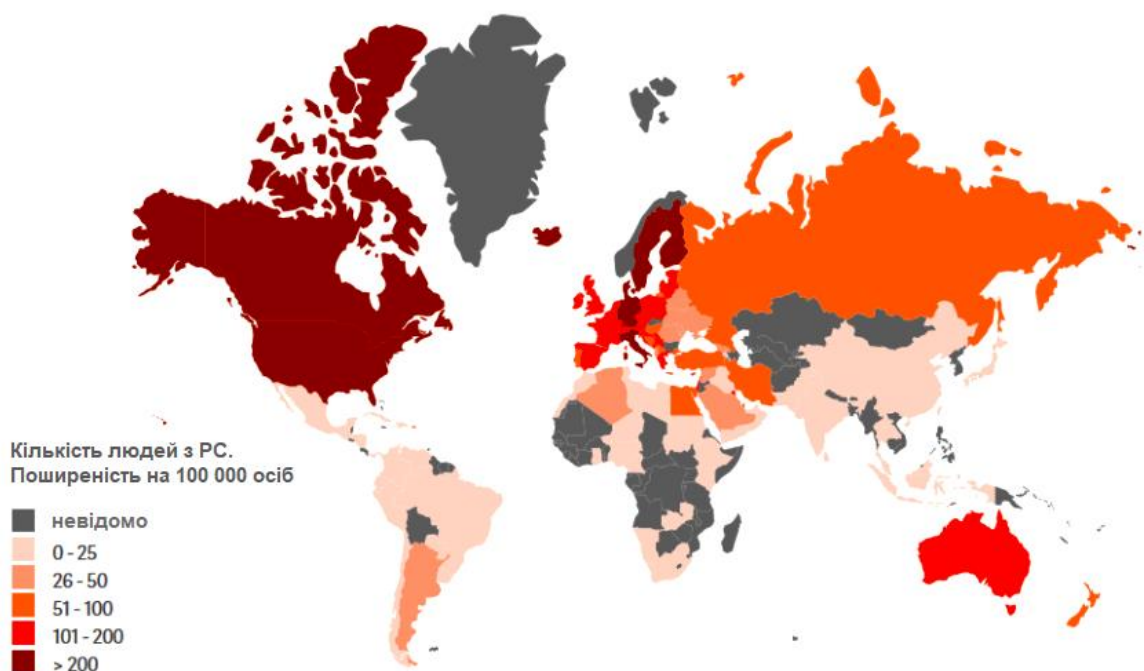


Рис. 1.2.1 Поширеність РС у світі за даними on-line атласу міжнародної федерації РС (<https://www.atlasofms.org/>)

Дані нейроімунологічного реєстру MSBase (<https://www.msbase.org/>) показують, що кількість людей із РС у всьому світі зросла з 2,3 млн у 2013 році до 2,8 млн у 2020 році та 2,9 у 2023 році. На сьогодні в **Україні налічується 20 924 хворих зі встановленим діагнозом РС**, у Польщі – 51 000, у Німеччині – 280 000, у Великобританії – 133 780 (<https://www.atlasofms.org/>).

У перебігу РС виділяють **три послідовні фази/форми**, відомі як (1) рецидивно-ремітуюча, (2) первинне прогресування та (3) вторинне прогресування РС. У межах кожної клінічної фази перебігу у пацієнтів може спостерігатися змінна активність захворювання, що підтверджується новою або наростаючою неврологічною симптоматикою (порушення мови, зорово-просторового сприйняття, пам'яті, концентрації уваги, хиткість при ході, порушення рівноваги, розлади сечовипускання та дефекації та ін.) або появою нових симптомів, що вказує на прогресування захворювання (рис. 1.2.2) [162].



Рис. 1.2.2 Фази перебігу РС (адаптовано за [162, 163])

Примітка. Чорні стрілки – запальна активність.

РС діагностується після доклінічної фази невідомого періоду часу, протягом якого може виникнути запальна активність, але вона не досягає клінічного порогу. Запальні ураження, виявлені за допомогою магнітно-резонансної томографії, які викликають клінічні симптоми, що зникають з

часом, сприяють рецидивно-ремітуючому перебігу захворювання. Однак, незважаючи на ремісію клінічних симптомів, субклінічна запальна активність все ще може виникати та сприяти прогресуванню захворювання і втраті об'єму мозку. Згодом хвороба може досягти вторинно прогресуючого перебігу, який характеризується атрофією мозку, незважаючи на меншу кількість запальних явищ (див. рис. 1.2.2). Ця фаза захворювання є важливою для дослідження, оскільки фізіологічні механізми ремієлінізації та відновлення аксонів не можуть подолати пошкодження, яке в кінцевому підсумку сприяє прогресуванню захворювання при РС [162]. Клінічні прояви РС мають широкий спектр неврологічних симптомів, починаючи від втрати чутливості до порушення функції м'язів, втрати зору, когнітивної дисфункції тощо [164].

Хоча пусковий механізм РС залишається невідомим, консенсус полягає в тому, що патогенез, заснований на активації аутоагресії проти білків мієліну, викликає дефекти в структурі ЦНС [165]. Куріння сигарет підвищує ризик РС, причому ризик у тих, хто будь-коли палив, на 50% вище, ніж у тих, хто ніколи не кував [166, 167]. Двома факторами навколишнього середовища, які впливають на ризик РС, є рівень вітаміну D та інфекція вірусу Епштейна-Барра [168]. Дефіцит вітаміну D на ранніх стадіях життя пов'язаний із підвищеним ризиком РС, тоді як тривале перебування на сонці в дитинстві корелює з меншим ризиком захворювання [169]. Крім того, дослідження [166, 170] показали зниження ризику РС на 40 % у жінок, які споживали щонайменше 400 міжнародних одиниць вітаміну D на день. Також із вищим ризиком розвитку РС пов'язують ожиріння, у тому числі у дитячому віці [171, 172].

1.2.2. Імунологічний каскад розвитку РС

Аномалії імунних механізмів були запропоновані як протагоністи патогенезу РС [165]. Це припущення ґрунтується на виявленні зниженої кількості та активності циркулюючих Т-регуляторних (T-reg) клітин, що корелює із загостренням симптомів захворювання [173, 174]. Показано, що кількість T-reg знижується під час рецидиву та відновлюється під час ремісії у

пацієнтів з РС [174]. Роль імунних механізмів у патогенезі РС також була підтверджена гістологічними дослідженнями, які вказують на наявність лейкоцитарного інфільтрату в бляшках у ЦНС [175, 176]. Одним із найбільш суттєвих доказів, що підтверджують імунні механізми захворювання, є виявлення антитіл і клонів лейкоцитів, специфічних до мозкових антигенів, серед яких аутоантитіла до основного білки мієліну (*myelin basic protein – MBP*) виявляються найбільш імуногенними [177]. Проте механізм активації аутоімунної відповіді при РС залишається неясним [165].

У патогенезі РС наразі припускають, що аутореактивні мієліноспецифічні лімфоцити активуються поза ЦНС, перетинають гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) та утворюють нові запальні демієлінізуючі ураження [156, 178]. Перетин ГЕБ залежить від взаємодії інтегринів на поверхні лімфоцитів з молекулами клітинної адгезії на ендотеліальних клітинах [179]. Однією з найважливіших взаємодій є зв'язування дуже пізнього інтегрину антигену-4 на лімфоцитах з молекулою адгезії судинних клітин-1 на ендотелії судин головного мозку [156].

У тканині мозку ці лейкоцити можуть активувати мікроглію та макрофаги, сприяючи місцевому запаленню. Розподіл лімфоцитів є популяційно-специфічним, де CD8⁺ Т-клітини в основному знаходяться на краю, тоді як CD4⁺ Т-клітини розташовані глибоко всередині уражень [165, 180]. Крім того, було продемонстровано їх роль у стадіюванні захворювання, оскільки CD8⁺ Т-клітини часто виявлялися в гострих ураженнях [181]. Важливу роль у розвитку РС ймовірно відіграють CD4⁺ Т-хелпери (Th1), що підтверджується їх високим титром у спинномозковій рідині у хворих на вказану патологію [182]. Дослідження внеску CD4⁺ клітин у патогенез РС виявило алель HLA-DR15 як антигенпрезентуючу структуру та джерело епітопу для аутореактивних CD4⁺ Т-клітин [183]. **Chitnis T. та співавт.** [183]. ідентифікували аутореактивні клони Т-клітин CD4⁺, які можуть перехресно реагувати з власними пептидами DR2a та DR2b, а також пептидами з чужорідних агентів, які показані як потенційна причина РС [165].

CD4⁺ Т-клітини можуть координувати адаптивну імунну відповідь, вивільняючи цитокіни та хемокіни, підтримуючи активацію мієлін-специфічних CD4⁺ Т-клітин та їх інфільтрацію мозку (рис. 1.2.3) [184].

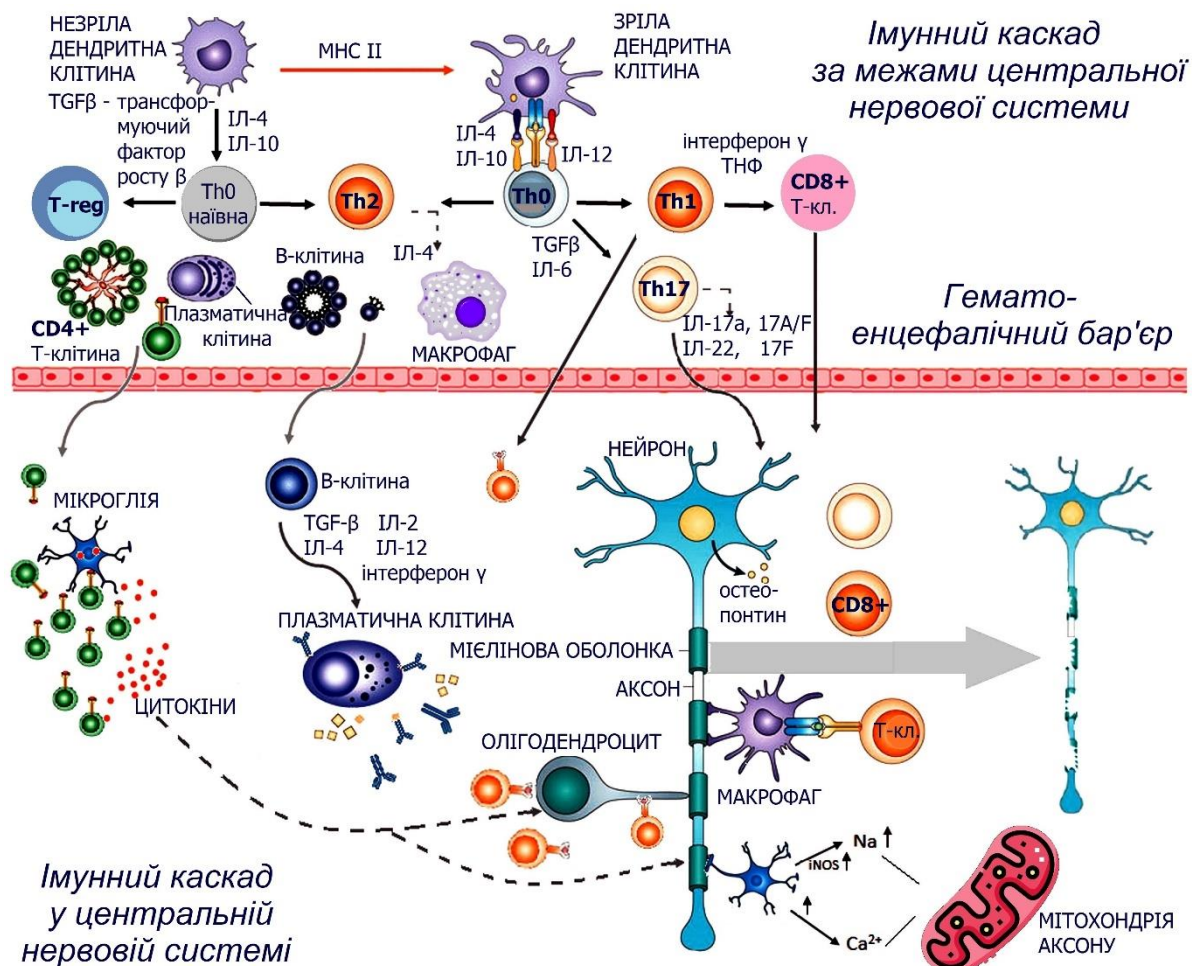


Рис. 1.2.3 Імунологічний каскад РС (адаптовано за [185])

Elyaman W. та співавт. [186] продемонстрували, що висока кількість клітин Th17 та підвищена транскрипція мРНК ІЛ-17 у крові пацієнтів з РС корелюють із тяжкістю захворювання. Велику кількість клітин Th17 було виявлено в спинномозковій рідині на ранній стадії РС [187]. Клітини Th17 можуть виробляти глутамат при контакті з олігодендроцитами в ЦНС [188]. Високий рівень глутамату може спричинити пошкодження олігодендроцитів, оголюючи мієлінові антигени як мішень для аутореактивних лімфоцитів [189].

Відомо, що В-клітини рідкісні в паренхімі уражень РС порівняно з Т-клітинами, проте вони можуть завдати шкоди шляхом вироблення аутоантитіл проти специфічних мієлінових антигенів [190]. В-клітини взаємодіють із CD4⁺ Т-клітинами та ініціюють адаптивну імунну відповідь на мієлінові антигени [165]. Значна В-клітинна інфільтрація часто виявляється вздовж дрібних кровоносних судин у місці руйнування мієліну, що свідчить про постійне вироблення зрілих В-клітин у ЦНС, що викликає місцеву гуморальну імунну відповідь [191].

Таким чином, сучасна парадигма патогенезу РС пояснюється активацією лімфоцитів Th1 та Th17 [192]. Активацією цих популяцій лімфоцитів керує певний набір цитокінів. Диференціація клітин Th1 регулюється інтерфероном- γ , ІЛ-2 та ФНП- α [193, 194]. Крім того, активований Th1 може секретувати інтерферон- γ та ФНП- α , які підтримують середовище запалення та забезпечують позитивний зворотний зв'язок для підтримки диференціації наївних Т-клітин до Th1 [195]. Диференціювання лімфоцитів Th17 суворо регулюється та потребує трансформуючого фактора росту- β та ІЛ-6 [196]. Цитокіни ІЛ-21 та ІЛ-23 підтримують проліферацію та стабілізацію популяції лімфоцитів Th17 [197]. Крім того цитокіни також можуть сприяти міграції аутореактивних Т- і В-клітин через ГЕБ [165].

Дифузійний кисень, оксид азоту та азот, які в основному виробляються макрофагами та активованою мікроглією, є ключовими механізмами пошкодження мієліну та олігодендроцитів під час ранньої демієлінізації [198].

1.2.3. Патомеханізми запалення та нейродегенерації при РС

Запальна реакція в головному мозку пацієнтів з прогресуючим РС спостерігається в основному у великих сполучнотканинних просторах мозкових оболонок та перивентрикулярному просторі Вірхова-Робіна. Ці запальні осередки в основному містять CD8⁺ Т-клітини, основний компонент CD20⁺ В-клітин та різну кількість плазматичних клітин і можуть у найважчих проявах організовуватися в структури з ознаками третинних лімфатичних

фолікулів. Крім того, є периваскулярні манжети, які в основному складаються з CD8⁺ Т-клітин, що більш широко розсіяні в білій речовині мозку. Запалення з Т-клітинами, В-клітинами та плазматичними клітинами пов'язане з повільним розширенням демієлінованих уражень, визначених прошарком активованих клітин мікроглії, які частково містять ранні продукти розпаду мієліну в корі та білій речовині. Активна демієлінізація та дифузне ураження тканин відбуваються на відстані від лімфоцитарних інфільтратів і, таким чином, можуть поширюватися розчинним демієлінізуючим або нейротоксичним фактором [199].

Мієлінізуючий олігодендроцит є мішенню під час адаптивної імунної відповіді при РС [162]. Як відомо, мієлін збільшує поперечний ізоляційний опір мембрани аксона, тоді як натрієві та калієві канали, керовані напругою, практично обмежені короткими немієлінованими вузлами Ранв'є. Потенціал дії, таким чином, поширюється за допомогою порівняно швидкого та енергетично ефективного процесу сальтаторної провідності. З цього випливає, що втрата мієліну призводить до уповільнення передачі потенціалу дії, а отже, до тривалої затримки, але також може призвести до блоку провідності [200]. Крім того, олігодендроцити безпосередньо підтримують нейрон, наприклад, забезпечуючи лактат для метаболізму та генерації АТФ [201].

Нейродегенерація супроводжується прогресуючою втратою нейронів, синапсів, дендритів, мієліну та тканини мозку. Однак у нейродегенеруючому мозку дуже мало мертвих або відмираючих клітин, і є мало доказів того, що нейродегенерація спричинена загибеллю нейронів [202, 203]. Це підвищує ймовірність того, що тканина мозку під час РС видаляється живою фагоцитами, такими як мікроглії [202, 203]. Як відомо, мікроглія є основними фагоцитами мозку (клітини, здатні поглинати та перетравлювати великі позаклітинні частинки) та захищають мозок шляхом фагоцитозу бактерій, агрегованих білків і клітинного дебрису [204]. Активована мікроглія може вбивати нейрони, вивільняючи ФНП- α , глутамат, катепсин В, супероксид або оксид азоту [205].

Активна демієлінізація зазвичай пов'язана з прозапальним фенотипом мікроглії (p22^{phox}+ (синонімічна назва *human neutrophil cytochrome b light chain* – CYBA), CD68+, CD86+ і антигени МНС класу II), тоді як протизапальні маркери (CD206, CD163, феритин) досягають піку в неактивному центрі ураження [206, 207]. Демієлінізація при РС не є неспецифічним наслідком запального процесу [208]. Картина коркової демієлінізації, яка спостерігається у пацієнтів з РС, добре відображена у приматів і шурів з експериментальним аутоімунним енцефаломієлітом, коли хвороба індукована поєднанням енцефалітогенної відповіді Т-клітин та присутністю специфічних демієлінізуючих антитіл [209]. У цьому випадку енцефалітогенні Т-клітини індукують запалення, пошкодження ГЕБ, активацію макрофагів або мікроглії та накопичення В-клітин та плазматичних клітин у мозкових оболонках і периваскулярних просторах. Демієлінізація, однак, викликається зв'язуванням специфічних демієлінізуючих антитіл та здійснюється через активацію комплементу або антитілозалежну клітинну цитотоксичність. Ці спостереження стимулювали зусилля з пошуку демієлінізуючих або цитотоксичних аутоантитіл у сироватці крові та спинномозковій рідині пацієнтів з РС [208].

Дослідження показали, що дегенеруючі нейрони, мієлін та олігодендроцити, ідентифіковані шляхом фрагментації їх відростків і апоптозу, демонструють глибоке окислення ліпідів [207]. Цей процес пов'язаний із пошкодженням мітохондрій, що відображається наявністю респіраторно-дефіцитних клітин і накопиченням делецій мітохондріальних генів [210, 211]. Глибоке окислювальне пошкодження також спостерігається в активних ураженнях білої речовини на ранніх стадіях РС. Пошкодження мітохондрій знаходиться в центрі патогенного каскаду, що призводить до стану гіпоксії та посилення окислювального пошкодження через витікання електронів (див. рис. 1.2.3) [199, 212]. Наслідком гіпоксії є енергетичний дефіцит, який призводить до іонного дисбалансу в уражених клітинах і клітинної дегенерації через Ca²⁺-залежні шляхи [213].

1.2.4. Терапевтичні мішені та перспективи безклітинної біологічної терапії при РС

Лікування РС можна розділити на три категорії: (1) лікування гострого рецидиву; (2) лікування, що модифікує захворювання (*disease modifying therapies – DMT*) та (3) симптоматичні методи лікування [214]. Британська асоціація неврологів поділяє засоби DMT на **(1) помірно ефективні** зі зниженням річної частоти рецидивів на 30–50% (β -інтерферони, глатирамеру ацетат, терифлунамід, диметилфумарат і фінголімод) і **(2) високоефективні** – зі зниженням річної частоти рецидивів понад 50% (алемтузумаб і наталізумаб) [215]. Загалом на сьогодні існує 18 імуномодуючих DMT, які зараз схвалені для лікування РС у США та Європі [216].

Однією з бажаних особливостей нових методів лікування РС та інших аутоімунних захворювань є **відновлення антигенспецифічної толерантності** без впливу на захисний імунітет проти інфекційних агентів та пухлин. Однак розвиток цих толерогенних підходів не є вільним від ризику, на що вказує загострення захворювання у пацієнтів з РС, які отримували модифікований мієліновий пептид, який, як вважається, має толерогенну активність [217]. Перспективні підходи до індукції антигенспецифічної толерантності охоплюють методи на основі клітин, що включає введення навантажених антигеном толерогенних ДК, аутоантиген-специфічних клітин T-reg або підходів на основі Т-клітинних рецепторів химерного антигену [218].

Клітини Швана, очевидно, є критичним фактором для підтримки гомеостазу в нервах та полегшення процесу нейрорегенерації, оскільки забезпечують трофіку для підтримки регенерації аксонів і є основним типом клітин, які організовують утворення мієлінових оболонок уздовж аксона [219, 220]. Крім того, клітини Швана виділяють нейротрофічні фактори та специфічні цитокіни, які можуть посилювати мієлінізацію аксонів [221]. У дослідженні **Lopez-Leal R. та співавт.** [222] показано, що вміст екзосом, отриманих з клітин Швана, сприяє регенерації аксона через сигнальний шлях PI3/AKT (*phosphatidylinositol 3'-kinase*). Позаклітинні екзосоми містять

мікроРНК-21, що може спричинити зниження регуляції фосфатази та гомолога тензину (*phosphatase and tensin homolog – PTEN*) і, як наслідок, активацію фосфоінозитид-3-кінази (PI3K) у нейронах. Крім того, екзосоми, отримані з клітин Швана, можуть інгібувати апоптоз нейронів та підвищувати життєздатність клітин [223].

Клітини-попередники олігодендроцитів, які широко розповсюджені по всій ЦНС, опосередковують мієлінізацію та ремієлінізацію після того, як вони залучаються до ділянок пошкодження мієліну та диференціюються в мієлінізуючі олігодендроцити [224]. Ремієлінізація при прогресуючому РС є привабливою концепцією через її теоретичну здатність не тільки зупиняти інвалідизацію, але й потенційно відновлювати існуючі порушення. Вважалося, що біотин, кофактор для незамінних карбоксилаз, підтримує відновлення мієліну шляхом посилення синтезу жирних кислот і захисту спричиненої гіпоксією дегенерації аксонів шляхом збільшення вироблення енергії нейронів [225].

1.3 Аутоімунне ураження щитоподібної залози

АІЗ щитоподібної залози (ЩЗ) – це опосередковані Т-клітинами органоспецифічні аутоімунні розлади, що виникають внаслідок зміненої відповіді імунної системи та характеризується порушенням толерантності імунної системи до тканин ЩЗ [226]. До АІЗ ЩЗ належать **хвороба Грейвса (Базедова хвороба)** та **тиреїдит Хашимото**, маніфестація яких клінічно може проявлятися відповідно **гіпер-** та **гіпотиреозом**. Однак можна виявити випадки, коли за наявності тиреоїдного аутоімунітету не виявлено клінічних або біохімічних проявів гіпер- та гіпотиреозу [227].

У загальній популяції жінки мають вищий ризик розвитку АІЗ-ЩЗ, ніж чоловіки, відповідно 4–8 до 1 [228]. Поширеність АІЗ-ЩЗ змінюється географічно – нижча поширеність АІЗ-ЩЗ спостерігається в районах з

дефіцитом йоду, тоді як надмірне споживання йоду пов'язане з вищою поширеністю АІЗ-ЩЗ [229].

Етіологія АІЗ-ЩЗ багатофакторна, а схильність до захворювання визначається поєднанням імунного механізму, генетики, факторів середовища і конституційних факторів [230]. Вважається, що генетичні фактори залучені до розвитку АІЗ-ЩЗ приблизно на 70% [231]. Серед основних генів сприйнятливості до АІЗ-ЩЗ, які були ідентифіковані та охарактеризовані, – це лейкоцитарні антигени людини HLA II класу (*class II, DR alpha – HLA-DR*) та гени, що не належать до головного комплексу гістосумісності МНС: цитотоксичний Т-лімфоцит-асоційований антиген 4 (*cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4 – CTLA-4*), CD40, протеїн тирозинфосфатази-22 (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 – PTPN22*), гени рецептора тиреотропного гормону (ТТГ) та ін. [232, 233].

До факторів ризику АІЗ-ЩЗ належать зокрема дефіцит селену [234], дефіцит вітаміну D [235], дефіцит заліза [236], споживання глютену [237], стрес, як емоційний, так і психологічний (через вплив кортизолу на імунні клітини з подальшою імунною гіперактивністю) [230], паління (відносний ризик гіпертиреозу Грейвса приблизно 2,0) [230], віруси (Т-клітинний лімфотропний вірус людини, вірус простого герпесу, краснухи, вірус епідемічного паротиту, вірус Епштейна-Барра, ентеровіруси, ретровіруси, парвовірус B19, SARS-CoV-2 та ін) [238]. Мікробіота кишківника [239], а також деякі лікарські засоби (препарати, що містять йодид, феназон, сульфізоксазол, аміодарон та ін.) [226, 240]. Фактори навколишнього середовища впливають на виникнення АІЗ-ЩЗ приблизно на 20%, оскільки вони пов'язані з активацією вродженої імунної відповіді та розвитком АІЗ-ЩЗ у сприйнятливих осіб [241]. Наприклад, надмірна кількість йоду у навколишньому середовищі асоціюється із підвищеним розвитком АІЗ-ЩЗ [242].

Усі форми тиреоїдного аутоімунітету пов'язані з лімфоцитарним інфільтратом у ЩЗ. Ці лімфоцити значною мірою відповідають за генерацію

аутореактивності, опосередкованої Т- та В-клітинами. Лімфатичні вузли ЩЗ та кістковий мозок також можуть містити тиреоїдні аутореактивні лімфоцити при АІЗ-ЩЗ. Початкова аутоімунна відповідь CD4⁺ Т-клітин, очевидно, посилює секрецію інтерферону- γ , що призводить до посилення експресії молекул МНС II на тироцитах. Це, швидше за все, викликає експансію аутореактивних Т-клітин та викликає характерну запальну реакцію, і в міру прогресування захворювання тироцити стають мішенями для апоптозу, що призводить до гіпотиреозу [230].

1.3.1. Ключові тиреоїдні антигени при аутоімунних захворюваннях щитоподібної залози

Основною ознакою патогенезу АІЗ-ЩЗ є активація як гуморальної, так і клітинної імунної відповіді проти аутоантигену [227]. Аутоантитіла, спрямовані проти різних антигенів ЩЗ, сприяють розширенню аутоімунної відповіді та відіграють функціональну роль, оскільки можуть індукувати секрецію тиреоїдних гормонів (таких як аутоантитіла до рецептора ТТГ (*thyrotropin receptor antibodies – TRAb*). Основними тиреоїдними антигенами, які можуть індукувати опосередковану антитілом відповідь, є рецептор ТТГ (*thyroid stimulating hormone receptor – TSHR*), тиреоглобулін (ТГ) та тиреопероксидаза (ТПО), однак також описано два інших антигени: пендрин та симпортер Na⁺/I⁻ [227].

ТГ – це глікопротеїн масою 660 кДа, що складається з двох ідентичних субодиниць по 330 кДа кожна. Він виділяється фолікулярними клітинами ЩЗ у просвіт фолікула та зберігається у вигляді колоїдної речовини в фолікулах залози. Кожна молекула ТГ містить близько 100 залишків тирозину, чверть з яких йодована. Ці залишки з'єднуються для **трийодтироніну (Т3)** та **тироксину (Т4)**. Коли ТТГ стимулює клітини ЩЗ, ТГ піддається ендоцитозу та гідролізу в лізосомах, вивільняючи Т3 та Т4. Точне розташування Т- та В-клітинних епітопів у ТГ невідоме. Аутоантитіла до ТГ виявляються менш ніж у 60% пацієнтів з лімфоцитарним тиреоїдитом та у 30% пацієнтів із хворобою

Грейвса. Вони поліклональні та в основному належать до класу IgG з усіма чотирма підкласами. ТТГ регулює експресію ТПО та ТГ на клітинній поверхні, змінюючи транскрипцію цих двох білків на рівні промотора гена. Ці ефекти імітуються аутоантитілами (як блокуючими, так і стимулюючими) у сироватці пацієнтів із хворобою Грейвса [230].

Рецептор ТТГ є основним аутоантигеном при хворобі Грейвса та атрофічному тиреоїдиті. Він розташований на базальній поверхні фолікулярних клітин ЩЗ. При хворобі Грейвса тиреотропні антитіла зв'язуються з рецептором та стимулюють клітини ЩЗ виробляти надмірну кількість тиреоїдних гормонів, що призводить до гіпертиреозу. У пацієнтів з атрофічним тиреоїдитом основним антитілом є ТТГ до його рецептора, що запобігає стимуляції клітин ЩЗ. Це призводить до зниження вироблення гормонів ЩЗ, атрофії залози та клінічного стану гіпотиреозу [230].

Антитіла до **тиреопероксидази (ТПО)** є ключовим ферментом ЩЗ, який каталізує як реакцію йодування, так й реакцію сполучення для синтезу тиреоїдного гормону. Він пов'язаний з мембраною та знаходиться в цитоплазмі та у високій концентрації на апікальній поверхні мікроворсинок тироцитів. Він має молекулярну масу від 100 до 105 кДа та раніше був відомий як тиреоїдний мікросомальний антиген. Як відомо, ТПО каталізує йодування тирозинів у ТГ, який приєднує один або два атоми йоду з утворенням монойодтирозину (MIT) або дийодтирозину (DIT), відповідно. ТПО також каталізує сполучення залишків йодтирозину з утворенням T3 та T4, приєднаних до ТГ, тоді як подвійна оксидаза (DUOX) постачає перекис водню (H_2O_2) для біосинтезу тиреоїдних гормонів (рис. 1.3.1) [243].

Вивільнення тиреоїдних гормонів вимагає поглинання колоїдного матеріалу (ендоцитоз) для утворення внутрішньоклітинних ендосом, які зливаються з лізосомами, утворюючи ендолізосоми (див. рис. 1.3.1).

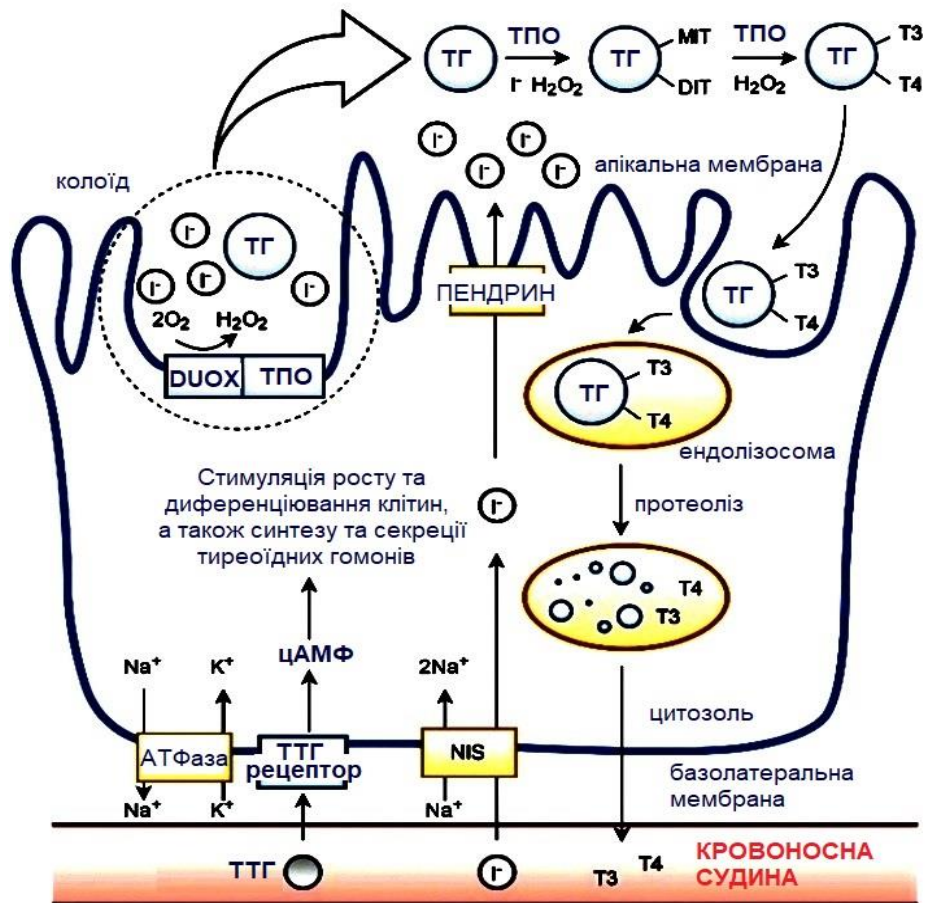


Рис. 1.3.1 Локалізація та фізіологічна функція тиреоїдних антигенів у тиреоцитах (адаптовано за [243])

Примітки. ТГ – тиреоглобулін, ТПО – тиреопероксидаза, DUOX – подвійна оксидаза, MIT – монойодтирозин, DIT – дийодтирозин, NIS – симпортер йоду та натрію, ТТГ – тиреотропний гормон, Т3 – трийодтиронін, Т4 – тироксин.

Тиреоїдні гормони, що вивільняються з каркасу ТГ, згодом секретуються в кровоносні судини. Зв'язування тиреотропіну (ТТГ або тиреоїдстимулюючого антитіла) з ТТГ-рецептором активує внутрішньоклітинну передачу сигналів опосередковано через цАМФ, що призводить до росту, диференціації тироцитів, а також до вироблення та вивільнення ТГ [243].

Аутоантитіла до ТПО виявляються у понад 90% пацієнтів з аутоімунним гіпотиреозом та хворобою Грейвса. Разом з антитілами до ТГ це переважаючі

антитіла при аутоімунному гіпотиреозі. Антитіла до ТПО в основному належать до підкласів IgG1 та IgG4 [230]. Дослідження **Guan H. та співавт.** [244] переважно еутиреоїдних пацієнтів із вузлами ЩЗ показало, що наявність антитіл до ТПО або дифузна неоднорідність при ультразвуковому дослідженні демонструє високу специфічність (89,4% і 88,9% відповідно), але лише помірну чутливість (63,9% і 49,1% відповідно). Позитивна прогностична цінність антитіл до ТПО при гіпотиреозі становила лише 75% [245].

Роль антитіл **пендрину** та **симпортеру йоду та натрію** (Na^+/I^- симпортер – NIS) у патогенезі АІЗ-ЩЗ суперечлива, це свідчить про те, що такі антитіла присутні у деяких пацієнтів із вказаною патологією, незважаючи на те, що їхнє клінічне значення в патогенезі АІЗ-ЩЗ та функції ЩЗ ще належить визначити [227, 246]. Як відомо, Na^+/I^- симпортер транспортує I^- та Na^+ через базолатеральну плазматичну мембрану епітеліальних клітин ЩЗ, а пендрин бере участь у апікальному відтоці йодиду в колоїд фолікула залози (див. рис. 1.3.1) [243].

Аутоімунні реакції при АІЗ-ЩЗ являють собою два протилежні патогенетичні процеси та клінічні результати. При хворобі **Грейвса** активовані Т-клітини CD4^+ спонукають В-клітини виділяти тиреотропні Ig проти рецептора ТТГ, що призводить до необмеженого вироблення гормонів ЩЗ та гіпертиреозу. У разі **тиреоїдиту Хашимото** самореактивні CD4^+ Т-лімфоцити рекрутують В-клітини та CD8^+ Т-клітини у ЩЗ. Прогресування захворювання призводить до загибелі клітин ЩЗ та гіпотиреозу. Як аутоантитіла, так й тиреоїдні специфічні цитотоксичні Т-лімфоцити вважаються відповідальними за аутоімунне виснаження тироцитів (рис. 1.3.2) [247].

Ключовим етапом розвитку АІЗ-ЩЗ є накопичення у ЩЗ антиген-презентуючих клітин, що експресують молекули МНС II класу. Інфільтрація ЩЗ вказаними клітинами (зокрема, ДК та макрофагами) може бути викликана запаленням у результаті вірусної або бактеріальної інфекції, або впливу токсинів на клітини ЩЗ. Крім того, фолікулярні клітини ЩЗ пацієнтів з АІЗ-

ЩЗ аномально експресують індуковані інтерфероном- γ молекули МНС класу II, що забезпечує презентацію тиреоїдних аутоантигенів, сприяючи активації Т-клітин [243, 248].

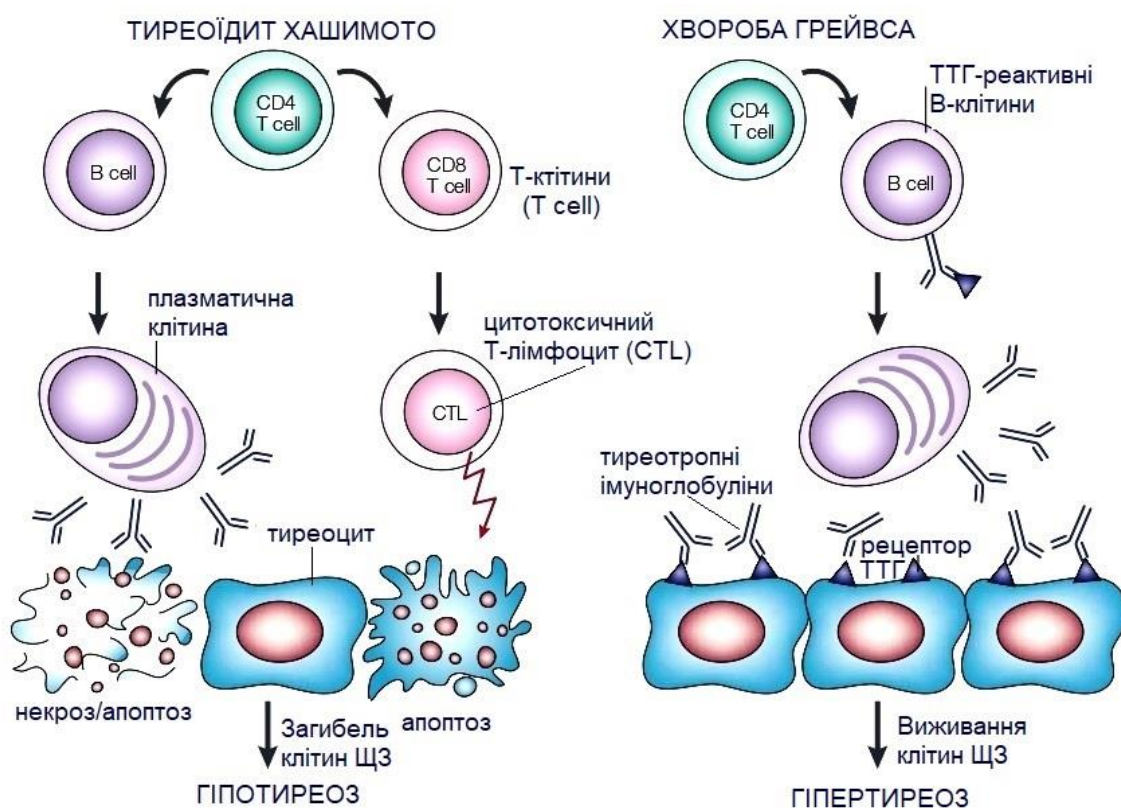


Рис. 1.3.2 Патогенез АІЗ-ЩЗ (адаптовано за [Stassi G,])

У випадку поширеного тиреоїдиту ЩЗ інфільтрована В-клітинами (що становлять до 50% інфільтрованих імунних клітин), а також цитотоксичними Т-лімфоцитами та CD4+ клітинами [249]. Взаємодія з антиген-презентуючими клітинами призводить до активації CD4+ Т клітин, які диференціюються у регуляторні Т-лімфоцити (T-reg) та Т-хелпери (Th), включаючи клітини Th1, Th2 та Th17 [243, 248].

1.3.2. Аутоімунний тиреоїдит Грейвса та роль цитокінів у його імунopatогенезі

Хвороба Грейвса є найпоширенішою причиною гіпертиреозу, і становить від 60% до 80% випадків гіпертиреозу [250]. Хвороба Грейвса

викликається тиреотропним Ig, також відомим як тиреотропне антитіло (антитіло проти ТТГ-рецептора). В-лімфоцити переважно синтезують тиреотропний Ig у клітинах ЩЗ, але він також може синтезуватися в лімфатичних вузлах та кістковому мозку. В-лімфоцити стимулюються Т-лімфоцитами, які сенсibiliзуються антигеном у ЩЗ. Тиреотропний Ig зв'язується з рецептором ТТГ на мембрані клітин ЩЗ та стимулює дію тиреотропного гормону. Він стимулює як синтез гормонів ЩЗ, так і ріст залози, викликаючи гіпертиреоз та тиреомегалію [250].

На відміну від гіпотиреозу при хворобі Хашимото, при хворобі Грейвса не існує компенсаторного механізму для запобігання гіпертиреозу. Тиреоїдстимулюючі антитіла, які активують рецептор ТТГ, є потужними антитілами та можуть викликати гіпертиреоз на ранній стадії імунної відповіді. Відповідно до відносно гострого початку захворювання, концентрації тиреоїдстимулюючих антитіл значно нижчі, ніж для ТПО або ТГ антитіл [248].

Ferrari S.M. та співавт. [233] відзначали підвищення рівня різних циркулюючих цитокінів при аутоімунному тиреотоксикозі, що вказує на те, що це може бути результатом хронічних ефектів надлишку гормонів ЩЗ. Під час гіпертиреозу інфільтрація ЩЗ Th1/Th2, Th17 та T-reg супроводжується утворенням низки цитокінів та хемокинів, які відіграють важливу роль у патогенезі хвороби Грейвса.

Як відомо, **цитокіни** – це невеликі білки (~5–20 кДа), які важливі для клітинної сигналізації та включають інтерлейкіни (ІЛ), хемокини, інтерферони, фактори некрозу пухлин (ФНП) та лімфокіни, але не фактори росту чи гормони. Цитокіни діють через рецептори та модулюють баланс між гуморальною та клітинною імунними відповідями [233]. **Хемокини (хемотаксичні цитокіни)** – це сімейство невеликих цитокінів або сигнальних білків, що виділяються клітинами, назва яких походить від їх здатності індукувати спрямований хемотаксис у найближчих чутливих клітинах. Усі хемокини мають масу приблизно 8–10 кДа, містять по 4 залишки цистеїну та

класифіковані на 4 основні підродини: (1) CXС, (2) СС, (3) CX3С (А/В) та (4) ХС [233, 251]. Лімфоцити Th1, рекрутовані в запалену тканину ЩЗ, продукують цитокіни (інтерферон-γ та ФНП-α), та хемокіни, створюючи петлю зворотного зв'язку, оскільки клітини Th1 приваблюються в тканини хемокінами, зокрема CXCL9 (*chemokine (C-X-C motif) ligand*), CXCL10 та CXCL11 (табл. 1.3.1) [252]. Саме тому високі рівні хемокінів Th1 у сироватці та тканинах характерні при АІЗ-ЩЗ, зокрема при хворобі Грейвса [253].

Таблиця 1.3.1

Роль цитокінів/хемокінів у патогенезі хвороби Грейвса (адаптовано за [233])

Цитокіни	Дослідження <i>in vivo</i>	Дослідження <i>in vitro</i>
CXCL10	- Важлива роль у рекрутуванні запальних клітин та в посиленні запалення при АІЗ-ЩЗ [254] - Високі рівні в сироватці крові у пацієнтів із рецидивуючим гіпертиреозом та у вперше діагностованих [255] - Високий рівень у сироватці пацієнтів з хворобою Грейвса [256] - Різні патерни експресії хемокінів при різних захворюваннях ЩЗ [257]	- Фолікулярні клітини ЩЗ є важливим джерелом CXCL10, який може опосередковувати залучення активованих лімфоцитів CXCR3+ до ЩЗ при АІЗ [258] - При стимуляції цитокіном Th1 інтерфероном-γ тироцити беруть участь в індукції та підтримці запалення шляхом вивільнення CXCL10; PPAR-γ (<i>Peroxisome proliferator activated receptor gamma</i>) пригнічує цей ефект [259] - Активація PPAR-α має інгібуючу роль у секреції CXCL10 клітинами ЩЗ [260]
CXCL9	- Важлива роль у рекрутуванні запальних клітин та в посиленні запалення при АІЗ-ЩЗ [254] - Різні патерни експресії хемокінів при різних захворюваннях ЩЗ [257] - Асоціація рівнів сироваткових хемокінів з активною фазою хвороби Грейвса [261] - Зв'язок між невиліковністю хвороби Грейвса та генотипом MIG rs2276886 [262]	- Фолікулярні клітини ЩЗ є важливим джерелом CXCL9, який може опосередковувати залучення активованих лімфоцитів CXCR3+ до ЩЗ при АІЗ [258] - При стимуляції цитокіном Th1 інтерфероном-γ тироцити беруть участь в індукції та підтримці запалення шляхом вивільнення CXCL9; PPAR-γ пригнічує цей ефект [259] - Активація PPAR-α має інгібіторну роль у секреції CXCL9 клітинами ЩЗ [259]

Цитокіни	Дослідження <i>in vivo</i>	Дослідження <i>in vitro</i>
CXCL11	Асоціація рівнів сироваткових хемокинів з активною фазою хвороби Грейвса [261]	1. При стимуляції цитокином Th1 інтерфероном- γ тироцити беруть участь в індукції та підтримці запалення шляхом вивільнення CXCL11; PPAR- γ пригнічує цей ефект [259] 2. Активація PPAR- α має інгібуючу роль у секреції CXCL11 клітинами ЩЗ [259]
CCL2	Різні патерни експресії хемокинів при різних захворюваннях ЩЗ [257]	
CCL5	Різні патерни експресії хемокинів при різних захворюваннях ЩЗ [257]	
ІЛ-37	Рівні мРНК ІЛ-37 були підвищені у пацієнтів з хворобою Грейвса порівняно з пацієнтами з неактивним захворюванням або здоровими особами [263]	У мононуклеарах периферичної крові при хворобі Грейвса ІЛ-37 інгібував продукцію ІЛ-6, ІЛ-17 та ФНП- α [263]
ІЛ-21	Була підвищена концентрація ІЛ-21 у сироватці крові у нелікованих пацієнтів з хворобою Грейвса [264]	ІЛ-21 міг брати участь у патогенезі захворювання, оскільки експресія ІЛ-21 та ІЛ-21R посилювалася у мононуклеарах периферичної крові пацієнтів з хворобою Грейвса [264]
CCL21	Клінічна кореляція між хворобою Грейвса та CCL21 плазми [265]	
ІЛ-23	Ген ІЛ-23А може бути маркером генетичного ризику в китайській популяції [266]	
ІЛ-6	Істотний зв'язок між поліморфізмом ІЛ-6-174 G/C та ризиком хвороби Грейвса [267]	
ФНП- α	Промотор SNP (<i>several single nucleotide polymorphisms</i>) rs1800629 у гені ФНП- α асоціюється з підвищеним ризиком розвитку хвороби Грейвса [268]	

1.3.3. Імунологічне підґрунтя аутоімунного тиреоїдиту Хашимото

На сьогодні запропоновано три різні механізми виснаження тироцитів при тиреоїдиті Хашимото: (1) аутоантитіла, депоновані у вигляді імунних комплексів на базальних мембранах фолікулів, можуть активувати комплемент та опосередковувати некроз тироцитів; (2) після взаємодії Т-клітинного рецептора/пептиду з головним комплексом гістосумісності цитотоксичні Т-лімфоцити можуть знищувати цільові тироцити через вивільнення гранул, які містять перфорин та гранзим В; (3) аутокринні або паракринні взаємодії між рецепторами «смерті» та їх лігандами можуть призвести до апоптозу тироцитів [247]. Інфільтровані Т-клітини можуть бути знищені тироцитами під час тиреоїдиту Хашимото. Активовані Т-лімфоцити при аутоімунному тиреоїдиті надзвичайно чутливі до стимуляції CD95 і, ймовірно, гинуть після взаємодії з тироцитами, що експресують CD178. Однак, оскільки тироцити при тиреоїдиті Хашимото набувають чутливості до стимуляції CD95, вони також можуть загинути через механізми апоптозу [247].

При аутоімунному тиреоїдиті Хашимото антигенпрезентуюча клітина активує CD4⁺ Т-лімфоцити, які запускають їх диференціацію в Т-хелпери (Th1, Th2 та Th17). Th1-лімфоцити, що секретують головним чином ІЛ-12, ФНП-α та інтерферон-γ, активують цитотоксичні Т-лімфоцити та макрофаги, які безпосередньо націлюються та руйнують фолікулярні клітини ЩЗ. Цитокіни, що вивільняються Th1, активують цитотоксичні Т-лімфоцити, запускаючи апоптоз тироцитів, індукований цитотоксинами (перфорин, гранзими та гранулізин) або взаємодією «Fas–Fas-ліганд», адже ЩЗ пацієнтів з гіпотиреозом експресує високі рівні Fas на поверхні фолікулярних клітин. [243]. Активованій цитотоксичний Т-лімфоцит експресує Fas-ліганд, який взаємодіє з Fas на тироцитах, запускаючи проапоптотичний сигнальний каскад.

Клітини Th2 стимулюють В-клітини, що призводить до утворення плазматичних клітин, які виробляють антитіла, спрямовані проти

аутоантигенів ЩЗ, що зв'язують аутоантигени ЩЗ та індукують апоптоз тироцитів (опосередкований антитілозалежною цитотоксичністю або активацією комплементу). Прозапальні лімфоцити Th17 секретують ІЛ-17, який стимулює макрофаги, фібробласти та епітеліальні клітини виробляти цитокіни, запускаючи апоптоз тироцитів. Супресивні дії Т-регуляторних лімфоцитів послаблюються при АІЗ-ЩЗ, запобігаючи протидії прозапальній активності Th17 [243, 249, 269]. Варто зазначити, що у пацієнтів із синдромом Хашимото імунні відповіді на ТПО та/або ТГ присутні протягом багатьох років та досягають високого рівня, ТТГ підтримує резерв ЩЗ [248].

1.4 Особливості перебігу аутоімунного ураження серця

За визначенням Міжнародного товариства та Федерації кардіологів Всесвітньої організації охорони здоров'я, міокардити – це група запальних захворювань серцевого м'яза на тлі відсутності гострої або хронічної ішемічної хвороби серця, які діагностуються за встановленими гістологічними, імунологічними та імуногістохімічними критеріями [270]. Термін «міокардит» був введений **Sobernheim G.** у 1837 р. За етіологічним фактором міокардити поділяють на інфекційні, неінфекційні та токсичні [271]. Згідно її рекомендаціями Європейського товариства кардіологів 2023 р. міокардит у поєднанні з серцевою дисфункцією та ремоделюванням шлуночків визначається як підтип пост-міокардитної кардіоміопатії [272]. Вважається, що значна кількість випадків міокардиту не діагностуються вчасно через субклінічні або неспецифічні симптоми [273, 274]. Перелік можливих етіологічних чинників міокардиту постійно розширюється, так нещодавно встановлено, що **інгібітори імунних контрольних точок** (*immune-checkpoint-inhibitor* – *ICI*), новий клас імуноонкологічної терапії, виявили потенційні кардіотоксичні властивості, викликаючи міокардит [275].

За даними **Vdovenko D. et al.** [276] у хворих групи ризику міокардит може прогресувати до хронічної стадії, що зрештою призводить до

патологічного ремоделювання серця та включає фіброз тканин, гіпертрофію та апоптоз кардіоміоцитів, та призводить до розширення камер серця з порушенням скоротливості – формування запальної **дилатаційної кардіоміопатії (ДКМП)**. В той же час, за даними *Коваленко В.М. та співавт.* [277, 278]. ДКМП більш доцільно розглядати як один з варіантів розрешення запального процесу. Це патогенетично важливо для призначення або непризначення імуносупресивної терапії, яка різниться при хронічному міокардиті, де є чинник і запальна реакція на нього та ДКМП – коли вже є тільки наслідки процесу без суттєвої запальної активності. Загальна частота ДКМП серед випадків міокардиту точно невідома, але ретроспективні дослідження повідомляють, що 9–16% невстановлених випадків неішемічної ДКМП мають гістологічні ознаки міокардиту, таким чином припускаючи тривале недіагностоване прогресування аутоімунного запалення [279, 280]. Така увага до ДКМП, спричиненої міокардитом, зумовлена даними про те, що у пацієнтів з ДКМП розвивається серцева недостатність із високою летальністю [281]. Варто зазначити, що у дітей міокардит призводить до кардіоміопатії у 46 % випадків [282], і, як повідомляється, до 20% випадків раптової смерті у молодих осіб спричинено саме міокардитом [283].

Вірусні інфекції є найчастішою причиною міокардиту поряд з деякими бактеріями та найпростішими. Крім того, токсини, вакцини та деякі лікарські засоби, а також системні аутоімунні захворювання також можуть спровокувати аутоімунітет і запалення, специфічні для серця [276, 284]. Після пошкодження тканин міокарда будь-якої етіології з'являються раніше криптогенні серцеві антигени – альфа важкі ланцюги міозину, тропоніни тощо. В той же час недостатній кліренс та активація аутоантигенпрезентуючих ДК у дренуючих лімфатичних вузлах, як ланка специфічної гуморальної імунної відповіді, можуть призвести до порушення серцево-специфічної толерантності, викликаючи продукцію серцево-специфічних аутоантитіл та аутореактивних CD4⁺ Т-клітин [279]. На сьогодні доведено, що аутоімунні механізми відіграють важливу роль у розвитку міокардиту та його

прогресуванні до запальної ДКМП [276]. В Україні проблему міокардиту активно досліджують лікарі-науковці Коваленко В.М., Несукай О.Г., Чернюк С.В., Козлюк А.С., Кириченко Р.М. та ін. [277, 278].

1.4.1 Сучасне уявлення про етіологічні чинники розвитку міокардиту

Міокардит є дуже широким патологічним поняттям, оскільки воно не враховує тригер або специфічні імунологічні особливості, пов'язані з захворюванням. Як наслідок, міокардит можна класифікувати на основі його етіології [279]. У Європі та Північній Америці міокардит часто є ідіопатичним. Інфекції, викликані кардіотропними ентеровірусами, такими як вірус Коксакі В3 (*Coxsackievirus B3 – CVB3*), були пов'язані із захворюванням і розглядалися як збудник. Поширеність ентеровірусів, виявлених у біоптатах серця хворих на міокардит, становила 14–57 % [285, 286]. Проте, причинна чи асоціативна роль окремих вірусних інфекцій у патогенезі міокардиту ще досліджується. Крім того, також залишається з'ясувати, чи впливає персистенція вірусного геному в міокарді на клінічні результати. Поки що клінічні дослідження привели до досить суперечливих висновків [285]. У Європі та Північній Америці міокардит також діагностують у хворих на хворобу Лайма (бореліоз). Захворювання викликає бактерія *Borrelia burgdorferi*, яка передається через укуси інфікованого кліща. За оцінками, у близько 10 % пацієнтів із хворобою Лайма розвивається міокардит [287]. У Латинській Америці інфекції, викликані найпростішими *Trypanosoma cruzi* (хвороба Шагаса), є найпоширенішою причиною запальних захворювань серця [288].

Неінфекційні причини міокардиту включають в основному системні аутоімунні захворювання та певні ліки [285, 289]. Міокардит спостерігався, наприклад, у пацієнтів із системним червоним вовчаком та міастенією. Останнім часом було зареєстровано численні випадки летального міокардиту у хворих на рак невдовзі після початку лікування інгібіторами імунних контрольних точок [290]. Інгібітори імунних контрольних точок відносяться до категорії препаратів (антитіл), спрямованих на негативні регулятори

відповіді Т-клітин, такі як цитотоксичний білок-4, асоційований з Т-лімфоцитами (*Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4 – CTLA-4*), білок програмованої клітинної смерті-1 (*Programmed cell death 1 – PD-1*) та PD-1 ліганд (*Programmed death-ligand 1 – PD-L1*). Вважається, що інгібітори імунних контрольних точок можуть активувати серцево-специфічний аутоімунний процес у схильних осіб [291]. Сьогодні широко визнано, що аутоімунні механізми залучені до розвитку та/або прогресування міокардиту [285].

Робочою групою Європейського товариства кардіологів узагальнено та структуровано відомості щодо етіологічних чинників міокардиту [292]. Новою нозологічною одиницею виступає міокардит, спричинений COVID-19. На даний момент визначено чотири основні прояви міокардиту в контексті SARS-CoV 2: міокардит, пов'язаний з гострою інфекцією COVID-19, post-COVID-19 синдром, мультисистемний запальний синдром та міокардит, пов'язаний з вакцинацією [293].

1.4.2 Провідні патогенетичні ланки та імунологічні механізми розвитку міокардиту

Клінічні дані свідчать про активну аутоімунну відповідь при міокардиті людини як на клітинному, так і на гуморальному рівнях [285]. Пошкоджуючий вплив імунопатологічних реакцій можна розділити на три взаємопов'язаних складових: а) ушкодження міокарда та інших тканин серця, зумовлене реакціями клітинного імунітету; б) ураження, зумовлене впливом гуморальних факторів, насамперед антитіл до скоротливих білків різноманітних структур серця; в) патологічні ефекти прозапальних цитокінів, що активно синтезуються імунними клітинами [277, 278].

Спочатку концепція серцево-специфічного аутоімунітету виникла на основі спостереження високих титрів серцево-специфічних аутоантитіл у інфікованих CVB3 осіб. Відповідно, у 30% пацієнтів з міокардитом та постміокардитною ДКМП спостерігаються високі титри серцево-специфічних

аутоантитіл [292]. Важкий ланцюг серцевого міозину (*Myosin heavy chain* – *МуНС*) був визначений як найбільш помітний аутоантиген для циркулюючих серцевих аутоантитіл у пацієнтів з міокардитом та кардіоміопатією. Насправді наявність аутоантитіл проти МуНС асоціюється з погіршенням систолічної функції лівого шлуночка та діастолічної ригідності у пацієнтів із хронічним міокардитом. Існують переконливі докази, що антигенпрезентуючі клітини також відіграють важливу роль у патогенезі міокардиту у людей, стимулюючи аутоімунні механізми [285]. Хронічна імунна стимуляція або аутоімунітет при хронічному вірусному міокардиті є результатом неповного подолання вірусної інфекції або відповіді на попередній вірус або імуноопосередковане хронічне ураження тканин. Розуміючи цю патофізіологію, очевидно, що вірусна діагностика при міокардиті завжди потрібна, коли підтверджується запалення. Як постійний антигенний тригер безперервно синтезованими вірусними білками, так і вивільнення внутрішньоклітинних білків з некротичних або апоптозних клітин міокарда, можуть стимулювати хронічне запалення, яке може врешті охопити весь міокард [293, 294].

Аутоімунні реакції ймовірно сприяють молекулярній мімікрії – активують вірус-специфічні Т-клітини, які атакують міокард. Під час цієї фази виробляються високі концентрації цитокінів (наприклад ФНП, ІЛ 1 α , ІЛ-1 β , ІЛ-2 та інтерферон- γ). Ці цитокіни разом з антитілами проти вірусних та серцевих білків ще більше посилюють ушкодження серця та знижують систолічну функцію внаслідок порушення скорочувального апарату та ураження білків матриксу [281, 294, 295].

Аналогічні випадки молекулярної мімікрії були задокументовані при ревматичному панкардиті, при якому інфікування стрептококом групи А (*Streptococcus pyogenes*) ініціює імунну відповідь на антигени господаря в периваскулярній сполучній тканині та в міокарді. Адоптивний перенос ДК, які завантажені серцевими антигенами, може індукувати інфільтрацію CD4⁺ Т-клітин у серцеву тканину та розвиток експериментального аутоімунного міокардиту; це вказує на те, що ДК достатньо для індукції запалення.

Активація вказаних клітин прозапальними цитокінами – ІЛ-1 та гранулоцитарно-макрофагальним колонієстимулюючим фактором (*Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* – GM-CSF) має вирішальне значення для ефективних аутореактивних Т-клітинних відповідей, а також для індукції експериментального аутоімунного міокардиту [296, 297].

1.4.3 Імунологічні механізми як основа розвитку міокардиту

Гуморальна ланка імунної відповіді при міокардиті зумовлена утворенням антитіл до скоротливих білків структур серця. Антиміокардіальні антитіла – це сукупність аутоантитіл класу IgG, які виробляються проти більшості антигенів у серцевому м'язі, але не всі мають провідне значення. За даними літератури [277, 278] у патогенезі аутоімунного ураження серця важлива роль відводиться антитілам до $\beta 1$ -адренорецептора ($\beta 1$ -АР), Крім того описані й інші види антитіл, що можуть зумовлювати аутоімунне ураження серця при міокардиті: антитіла до холінергічних рецепторів, антимітохондріальні та антицитоплазматичні антитіла, антитіла до актину, кардіального міозину, тропоніну I, ламініну, віментину, фібронектину, колагену, транспортного білка Ca^{2+} -АТФази та ін.

Доцільно зупинитися на ролі антитіл до $\beta 1$ -АР в патогенезі аутоімунного ураження серця. Патологічний вплив антитіл до $\beta 1$ -АР здійснюється через персистентну патологічну стимуляцію $\beta 1$ -АР шляхом опосередкованої через циклічний аденозинмонофосфат активації протеїнкінази А, що в довготривалій перспективі призводить до активації апоптозу, порушення скоротливої функції та гіпертрофії кардіоміоцитів та десинситизації $\beta 1$ -АР, яка прогресує [279]. Довготривала стимуляція $\beta 1$ -АР супроводжується активацією апоптозу кардіоміоцитів та підвищенням ризику виникнення аритмій унаслідок збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} [277, 278].

Клітинна ланка імунітету. Більшість імунних клітин, виявлених при міокардиті людини та експериментальному міокардиті, належать до

моноцитарних або макрофагальних ліній [275]. Біопсія у пацієнтів з гострим міокардитом демонструє накопичення Т-клітин та макрофагів, а також інших запальних клітин у тісному контакті з пошкодженими кардіоміоцитами [276].

CD4⁺ Т-клітини були визначені як основні рушійні сили серцево-специфічного аутоімунітету при міокардиті [298]. Повідомлялося, що ефекторні CD4⁺ Т-клітини (Teff) є критичними для розвитку міокардиту у хворих [299]. Самореактивна активація Т-клітин є основною причиною аутоімунних захворювань, і тому толерантність до деяких тканинно-обмежених аутоантигенів повністю формується екстратимічними процесами. Пригнічення аутореактивних CD4⁺ Т-клітин залежить від периферичних ДК, які представляють тканинно-обмежені аутоантигени, отримані в основному в результаті обміну апоптичних клітин [298]. У нормальних умовах існують дві чіткі стадії центральної та периферичної толерантності, які запобігають формуванню аутоімунітету під час розвитку та активації Т-клітин. Центральна толерантність базується на клональній делеції та клональному відхиленні та відповідає за вилучення аутореактивних лімфоцитів у тимусі [300].

Як відомо, макрофаги складають більшу частину популяції імунних клітин, які локалізуються навколо ендотеліальних клітин та інтерстицію міокарда. Тучні клітини та ДК також можна знайти у міокарді в нормі. Нейтрофіли та моноцити не знаходяться у міокарді в нормі, за винятком кровоносних судин. Т-клітини та В-клітини рідко виявлялися в нормальному стані [301].

Як тільки відбувається аутореактивна сенсibilізація, широкий набір імунних клітин та їхніх цитокінів мігрує в серцевий інтерстиціальний простір для запуску запальної відповіді [302]. Як клітини вродженої, так і адаптивної імунної системи сприяють складній взаємодії ініціації та підтримки аутореактивності Т-клітин [303].

Дисрегульовані популяції CD4⁺ Т-клітин та пов'язані з ними цитокіни (рис. 1.4.1) є критичними для розвитку та прогресування міокардиту [304]. За

даними *Ivanova E.A. та співавт.* [305] всі субгрупи CD4⁺ Т-клітин є потенційно кардіотоксичними залежно від їх поляризації.

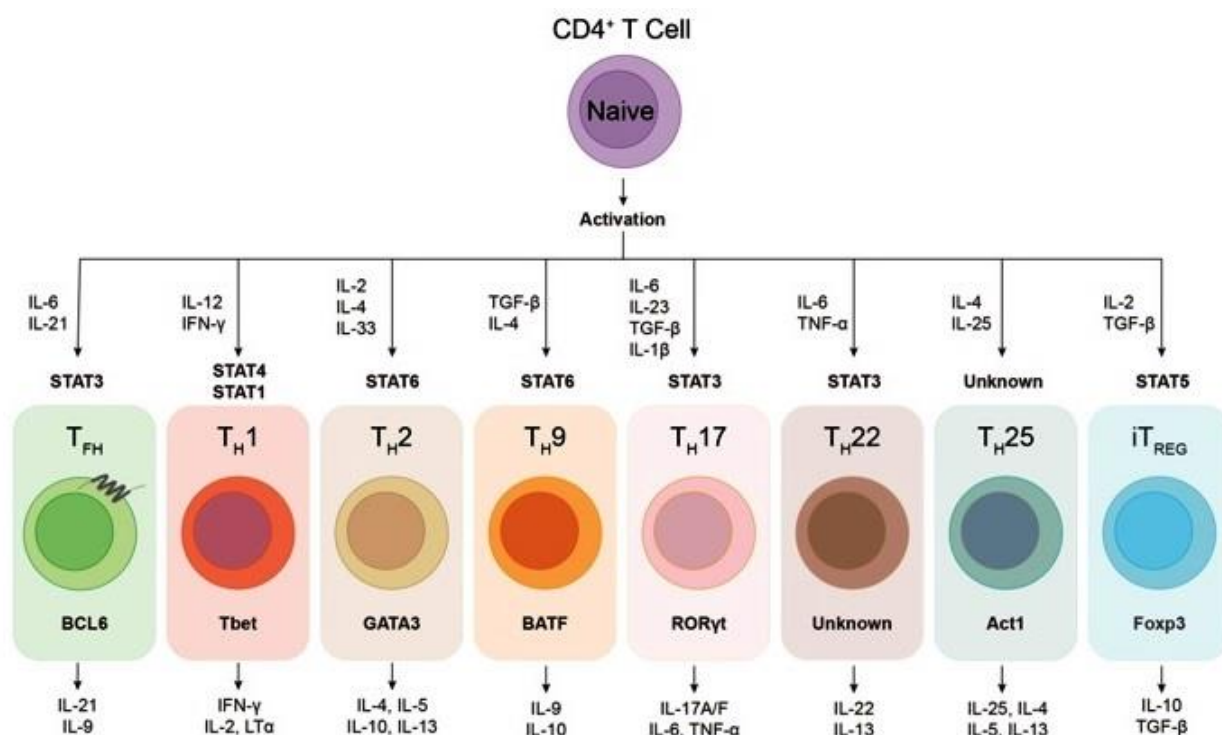


Рис. 1.4.1 Пластичність хелперних CD4⁺ Т-клітин (адаптовано за [306])

Як відомо, у відповідь на різні цитокінові середовища, зумовлені патогенними чинниками, наївні Т-клітини стають специфікованими для вироблення селективного репертуару цитокінів. Наприклад, внутрішньоклітинні патогени можуть індукувати вироблення ІЛ-12, який діє через STAT4 (*signal transducer and activator of transcription 4*), сприяючи диференціації клітин у Th1, які вибірково продукують інтерферон-γ та ІЛ-2. Подібним чином позаклітинні бактерії викликають секрецію ІЛ-23 та ІЛ-6, які активують STAT3 та створюють умови для диференціації клітин у Th17, що продукують ІЛ-17 (див. рис. 1.4.1) [306]. Інша підгрупа CD4⁺ Т-клітин утворюється в тимусі та експресує фактори транскрипції Foxp3 (*Forkhead box P3*), які називають природними регуляторними Т-клітинами. Foxp3 також можна індукувати в клітинах на периферії, і ці клітини називаються

індукованими клітинами T-reg. Регуляторні T-клітини Foxp3⁺ мають вирішальне значення для стримування імунної відповіді [306].

Клітини Th1 володіють двовекторною дією при міокардиті – не тільки ініціюють пошкодження тканин, але й захищають міокард від надмірного запалення [281]. Вони сприяють ранній відповіді при міокардиті через прозапальні цитокіни, такі як інтерферон- γ , ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-12, а інтерферон- γ є сигнатурним цитокіном цієї підгрупи [307].

Підвищені рівні **клітин Th2** та відповідних цитокінів виявлено у тканинах серця пацієнтів з міокардитом та прогресуючою серцевою недостатністю [308]. Крім того, протиалергічний інгібітор цитокінів Th2 пригнічував запалення серця у пацієнтів з гострим еозинофільним міокардитом, підкреслюючи критичну роль клітин Th2 у розвитку міокардиту [309].

Клітини Th17 та споріднені цитокіни, такі як ІЛ-17A, ІЛ-17F, ІЛ-22, ФНП- α , є основними регуляторами пізньої або хронічної фази міокардиту, а ІЛ-17A та ІЛ-17F є сигнатурними цитокінами [281].

Нещодавно відкриті підмножини CD4⁺ T-клітин включають клітини **Th9**, **Th22** та T-фолікулярні хелпери (Tfh) тощо. Потенційна роль цих нових підмножин у запаленні серця та аутоіmunітеті ще належить з'ясувати [306].

Таким чином, клітинний каскад міокардиту спочатку активує резидентні імунні клітини у міокарді, а вже після скоординовано залучаються різноманітні популяції лейкоцитів [301], що узагальнено у табл. 1.4.1.

Таблиця 1.4.1.

**Узагальнення характеристики імунних клітин, залучених
до розвитку міокардиту (адаптовано за [301])**

Тип імунних клітин	Маркери	Функціональна роль	Роль у патогенезі міокардиту
ВРОДЖЕНИЙ ІМУНІТЕТ			
Макрофаги	CD68/CD163	Представлення антигену, вроджена імунна відповідь, полегшення електропровідності серця	Поляризація макрофагів до M2 захищає від вірусного міокардиту шляхом полегшення запалення
MHC II ^{hi} M	MHC II ^{hi} /CCR2 ⁻		
MHC II ^{low} M	MHC II ^{low} /CCR2 ⁻		
CCR2 ⁺ M	MHC II/CCR2 ⁺	електропровідності серця	
Еозинофіли	CD9, CD35	Цитотоксична дія, стимуляція Т-клітин	Розвиток еозинофільного міокардиту
ДК			
Плазматичні ДК	CD123 CD303	Продукція інтерферону 1 типу, що активує цитотоксичні Т-лімфоцити	Пригнічення міокардиту
Класичні ДК	CD209, CD103 та CD141 MHC II	Представлення антигену	
NK клітини (Natural killer)	CD56 та CD94 (NKG2A)	Вбиває клітини та регулює серцеве запалення	Захист проти міокардиту
Тучні клітини (Mast cells)	Триптази, карбоксипептидаза А3	Перша лінія захисту та вивільнення гранул для регулювання запальної реакції	Сприяння міокардиту та фіброзу
АДАПТИВНИЙ ІМУНІТЕТ			
CD4⁺ Т клітини	CD3, CD4	Регулювання запальної реакції	
Th1 клітини	IL-12, інтерферон-γ, ФНП-α		Пригнічення міокардиту
Th2 клітини	IL-4, IL-5, IL-10, IL-23		Промоція міокардиту
Th17 клітини	IL-17, IL-6, IL-21, IL-22		Промоція міокардиту до ДКМП
T-reg	CD4, FOXP3 CD25,	Імуносупресивна активність шляхом вироблення інгібіторних цитокінів	Пригнічення міокардиту
CD8⁺ Т клітини	CD8	Цитотоксичні Т-лімфоцити, Т-клітини пам'яті та регуляторні Т-клітини	Промоція міокардиту
В клітини	CD19, CD20	Вироблення антитіл	Промоція міокардиту

Примітки.

CCR2 – Chemokine Receptor type 2;

NKG2A – Natural Killer cell protein Group 2-A;

FOXP3 – Forkhead box P3.

Сучасні підходи до лікування міокардиту базуються на імуносупресії, націленій на загальне запалення та досягаються класичним шляхом за допомогою кортикостероїдів, циклоспорину А, азатіоприну або комбінації вищезазначених засобів [275]. Імуномодуючі агенти забезпечують більш цілеспрямований підхід із зменшенням побічних ефектів. Відновлення дисбалансу ефекторних та регуляторних Т-клітин потребує поглиблених досліджень клонів Т-клітин, щоб використовувати модуляцію делеції клонів у лікуванні міокардиту.

1.5 Аутоімунні механізми розвитку гломерулонефриту

Термін «гломерулонефрит» (ГН) використовується для опису групи гетерогенних імуноопосередкованих розладів, що характеризуються запаленням фільтраційних одиниць нирки (клубочків). Ці розлади в даний час класифікуються переважно на основі гістопатологічних моделей уражень, але ці моделі погано узгоджуються з їх різноманітними патологічними механізмами і, отже, не забезпечують оптимальної терапії [310]. У 2023 р. **Anders H.J. та співавт.** [310] запропонували класифікувати ГН на п'ять категорій відповідно до їх імунопатогенезу: (1) інфекційний, (2) аутоімунний, (3) алоімунний, (4) аутозапальний та (5) моноклональний ГН.

Дослідження глобального тягаря захворювань 2019 р. надало оновлені дані щодо епідеміології гострого ГН для 195 країн з 1990 по 2019 рік. Стандартизовані за віком показники поширеності ГН (код Міжнародної класифікації хвороб: N00-N01.9) у 2019 році на 100 000 населення становили 0,63 (95% довірчий інтервал (ДІ): 0,52–0,76), захворюваність становила 9,45 (95% ДІ: 7,72–11,55), рівень смертності становив 0,13 (95% ДІ: 0,10–0,16) [311].

Накопичення даних свідчить про те, що запальні та імунологічні процеси відіграють значну роль у розвитку та прогресуванні захворювань клубочків. Після пошкодження подоцити не можуть регенерувати, що

призводить до прогресуючих протейнуричних клубочкових захворювань. Однак нові дані свідчать про те, що подоцити не тільки підтримують бар'єр клубочкової фільтрації та є важливими мішенями імунної відповіді, але також демонструють багато ознак імуноподібних клітин, де вони беруть участь у модуляції активності вродженого та адаптивного імунітету. Ця подвійна роль подоцитів може призвести до відкриття та розробки нових терапевтичних мішеней для лікування клубочкових захворювань [312].

Гломерулопатія, основною мішенню якої є подоцит, та характеризується відкладенням імунних комплексів у субепітеліальному просторі капілярної петлі клубочка з подальшою активацією системи комплементу отримала назву **мембранозна нефропатія (МН)** [313].

Термін «МН» відноситься не до окремого захворювання, а до гістологічної картини, спільної для кількох окремих етіологій [314]. Особливості біопсії, характерні для МН, включають тріаду: (1) потовщення стінки капіляра, що візуалізується за допомогою світлової мікроскопії, (2) електронно-щільні субепітеліальні імунні відкладення, які ідентифікуються за допомогою електронної мікроскопії та (3) активна реакція гранульованих периферичних капілярних петель на IgG методом імунофлюоресценції [315].

МН є рідкісним захворюванням – захворюваність на МН у західному світі оцінюється в 1,2 випадки на 100 000 осіб/рік [316]. МН є основною причиною нефротичного синдрому у дорослих білої раси без діабету (приблизно 30%). За даними **Bobart S.A. та співавт. (2021 р.)** [317] первинна МН, пов'язана з антитілами до PLA2R, зазвичай уражує чоловіків (75% випадків) із середнім віком 52 роки. Навпаки, МН, пов'язаний із системним аутоімунним захворюванням (АІЗ), частіше зустрічається у жінок (81% випадків) у молодому віці. МН, асоційована зі злоякісними новоутвореннями, уражує пацієнтів старшого віку, середній вік яких становить 65 років [313, 317]. Незважаючи на те, що МН може спонтанно регресувати без лікування, у третини пацієнтів спостерігається прогресуюча втрата функції нирок, що може

призвести до термінальної стадії ниркової недостатності у середньому через 5 років після встановлення діагнозу [314].

Патофізіологія МН була в центрі досліджень протягом більше 50 років, і багато робіт стосуються активації шляхів комплементу в експериментальних захворюваннях і захворюваннях людини [314]. Сучасні концепції щодо патогенезу МН в основному походять від ранніх досліджень, проведених на моделі нефриту Хеймана [318]. *Heymann W. та співавт.* (1965 р.) [319] вводили неочищені екстракти нирок у поєднанні з ад'ювантом Фрейнда щурам для розвитку МН. Ця модель називається *моделлю активного нефриту Хеймана* [318]. Згодом була розроблена *модель пасивного нефриту Хеймана*, при якому субфракцію проксимальних каналців щурів, названу фракцією 1A (Fx1A), виділяли та вводили вівцям для отримання антитіл, які потім вводили щурам [318].

1.5.1 Подоцити як клітини-«мішені» та цільові антигени при МН

Подоцити – високоспеціалізовані клітини клубочка, що контролюють проникність бар'єру клубочкової фільтрації. Завдяки структурному складу щільної діафрагми подоцити взаємодіють з ендотеліальними та мезангіальними клітинами для координації сигналів, які модулюють клітинну адгезію та взаємодію з матриксом для підтримки та контролю клубочкової проникності. Точна регуляція та організація цитоскелетної архітектури подоцитів є важливими для підтримки фільтраційного бар'єру нирок [320]. Подоцити вистилають зовнішню поверхню базальної мембрани клубочка. Кожен подоцит пов'язаний з більш ніж однією артеріолою, і кожна артеріола покрита більш ніж одним подоцитом. Подоцити складаються з клітинного тіла, первинних відростків і «ніжок» (рис. 1.5.1).

Відростки подоцитів містять скоротливий апарат, що включає актин, міозин, актинін, талін, вінкулін та віментин, який протидіє гемодинамічним силам клубочкових капілярів [321].

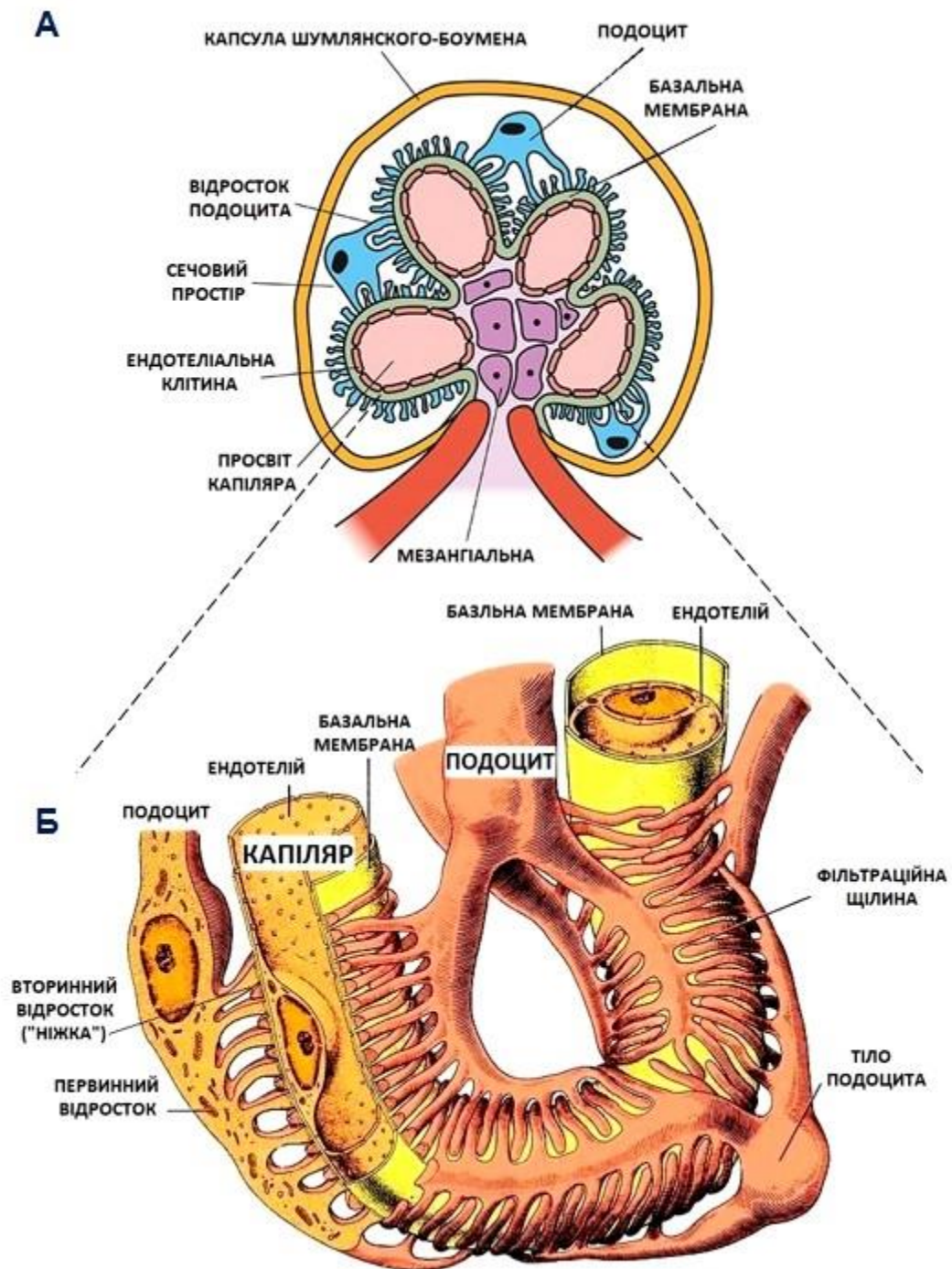


Рис. 1.5.1 Схеми будови нефрону (А) та просторова модель подоциту (Б)

Подоцити є високоспеціалізованими епітеліальними клітинами клубочка, мають важливе значення для селективної проникності бар'єру клубочкової фільтрації, допомагаючи гарантувати, що важливі молекули, такі як білки, залишаються в крові [312]. Участь у клубочковій фільтрації є основним завданням подоцитів. Клубочковий фільтрат протікає через ендотеліальний просвіт, базальну мембрану та щілинні діафрагми в проміжках

між відростками подоцитів. Щілинні діафрагми є найважливішими функціональними елементами тришарової фільтраційної мембрани. Відростки подоцитів складаються з багатьох білків, які утворюють взаємодіючий комплекс. Пошкодження одного з його елементів порушує функцію щілинних діафрагм [321].

Пошкодженням подоцитів при МН опосередковане антитілами проти антигенів подоцитів, що депонуються під гломерулярними вісцеральними епітеліальними клітинами [322, 323].

Однією з ключових передумов екстраренальної аутоімунної відповіді, яка залучає нирки, є те, що ці антигенні білки повинні експресуватися в нирках і, точніше, в подоцитах [324]. Останні 20 років принесли революційний прогрес у розумінні МН, зокрема завдяки відкриттю нових цільових антигенів та відповідних аутоантитіл. Ці відкриття поставили під сумнів традиційну класифікацію МН на первинну та вторинну форми. Було ідентифіковано щонайменше 14 антигенів-мішеней, на які припадає 80–90% випадків МН [325, 326].

У 2002 р. **Ronco P. та співавт.** ідентифікували антитіла до **нейтральної ендопептидази (НЕП)** у новонароджених з антенатальним мембранозним гломерулонефритом [327, 328]. Дослідники встановили, що генетичний дефект гена MME, що кодує НЕП у матері, призводить до розвитку МН у її плода (материнські анти-НЕП-антитіла зв'язуються з НЕП на фетальних подоцитах). Ці висновки підвищують ймовірність того, що мутації або генетичні поліпорфізми в MME або інших генах, які експресуються подоцитами, залучені в аутоімунноопосередкований розвиток МН після трансплантації нирки або кісткового мозку [327, 328].

У 2009 р. **Beck L.H.** [329] встановив, що основним антигеном при МН виступає **рецептор фосфоліпази-A2 М-типу (*phospholipase A2 receptor – PLA2R*)**, який належить до сімейства манозних рецепторів і є трансмембранним глікопротеїном типу I з масою 185 кДа, позаклітинна частина якого складається з N-кінцевого домену, багатого на цистеїн (CysR

або рицин В), одного домену фібронектину типу II (FnII) та 8 лектиноподібних доменів С-типу (CTLД) [324, 330]. Вміст саме анти-PLA2R-антитіл слугує прогностичним параметром ефективності імуносупресивної терапії. Дослідники [329] показали, що у 70% дорослих пацієнтів з первинною МН виявлено IgG4Abs проти PLA2R.

Слід зазначити, що окрім подоцитів нирок, PLA2R1 також експресується в легенях, плаценті, печінці та скелетних м'язах [331].

У 2014 р. **Tomas N.M. та співавт.** [332] повідомили про друге аутоантитіло IgG4, специфічне для 7A, що містить домен тромбоспондину типу 1 (*thrombospondin type 1 domain containing 7A* – THSD7A). Фізіологічна роль THSD7A в подоцитах неясна. Припускають, що THSD7A може сприяти адгезії подоцитів до базальної мембрани [333].

Приблизно 2,5–5,0% пацієнтів з ідіопатичною МН мали аутоантитіла проти THSD7A, що відповідало 8–14% пацієнтів, які були серонегативними щодо антитіл до PLA2R. Відсоток пацієнтів з аутоантитілами до THSD7A був вищим у європейській когорті [332]. THSD7A більш сильно експресується в подоцитах, ніж у клубочкових ендотеліальних та мезангіальних клітинах [335].

THSD7A та PLA2R мають досить схожі структурні та біохімічні властивості. Обидва білки експресуються на мембранах подоцитів і мають високу молекулярну масу та велику позаклітинну ділянку, що складається з повторюваних дисульфідних зв'язків і N-глікозильованих доменів. Крім того, аутоантитіла як до THSD7A, так і до PLA2R1, належать переважно до підкласу IgG4. Особливий інтерес представляє той факт, що у пацієнтів, здається, виникає аутоімунна відповідь проти THSD7A або PLA2R1, але не проти обох [332, 334].

THSD7A та PLA2R, експресовані на відростках подоцитів, слугують антигеном-мішенню для циркулюючих антитіл та призводять до відкладення імунних відкладень *in situ* – так звана, антитілоопосередкована подоцитопатія. Циркулюючі імунні комплекси, як правило, не створюють субепітеліальних

відкладень і не викликають МН, але певні фізико-хімічні властивості комплексу можуть дозволити субендотеліальним відкладенням дисоціювати та фіксуватись під подоцитами [336, 337, 338].

Після того як плазматичні клітини ініціюють вироблення антитіл проти PLA2R та THSD7A, антитіла негайно зв'язуються з подоцитами, і починає розвиватися протеїнурія. Протеїнурія згодом починає наростати і в сироватці крові виявляються антитіла, що відповідає клінічно активній фазі. Під час ремісії МН вироблення антитіл припиняється і вони зникають з кровообігу (рис. 1.5.2) [318].

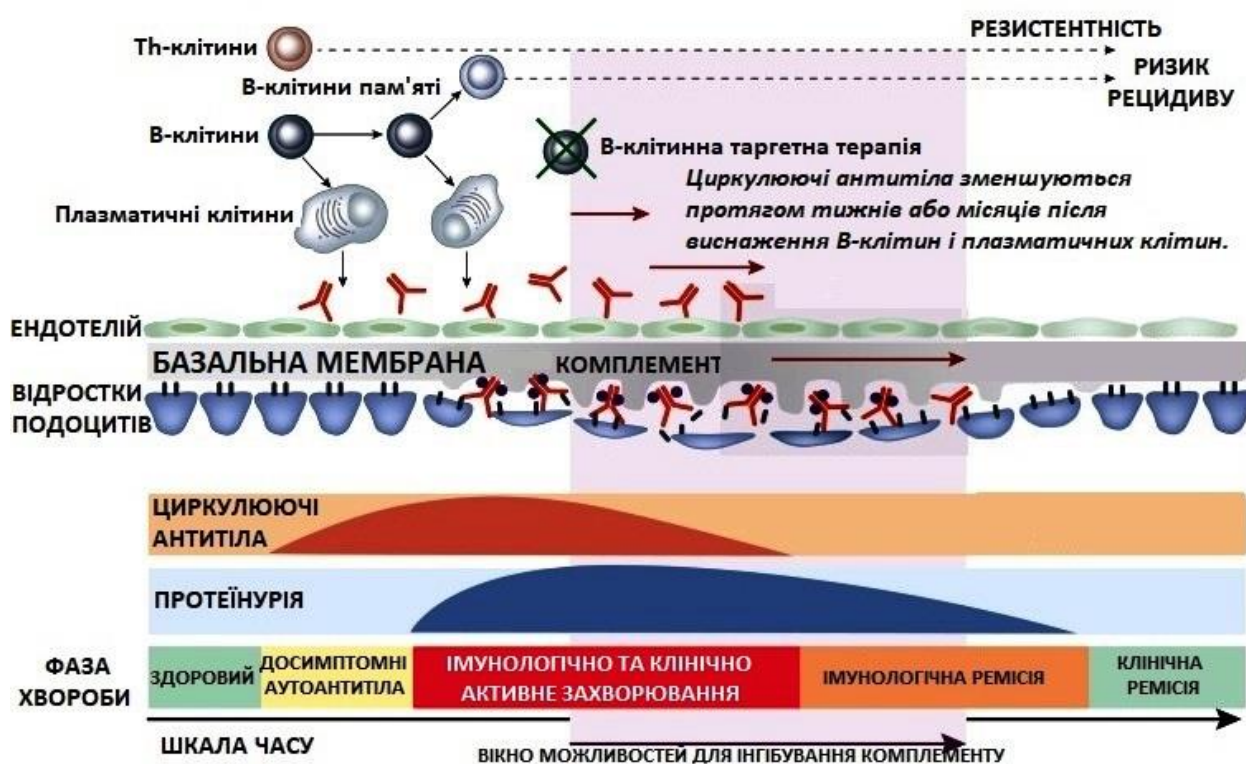


Рис. 1.5.2 Активація комплементу та фази МН (адаптовано за [336])

Узагальнені відомості про визначені на сьогодні цільові антигени при МН (табл. 1.5.4) та частоту їх виявлення (рис. 1.5.4) вичерпно було узагальнено Міжнародним товариством нефрології та Фондом медичної освіти та досліджень Мейо у Консенсусному звіті клініки Мейо про мембранозну нефропатію (2023 р.) [333]. Зазначеним звітом запропоновано двохетапну класифікацію МН – виявлення антигену/антитіла при МН є першим кроком, а

ідентифікація та кореляція з супутнім захворюванням або станом, якщо воно є, є другим кроком [333].

Таблиця 1.5.4

Характеристика антигенів при МН [333]

Цільовий антиген	Експресія подоцитом	Виявлення аутоантитіл	Зв'язок з віком, хворобами тощо
PLA2R – M-type phospholipase A2 receptor	+	+	Жодного
THSD7A – thrombospondin type-I domain-containing 7A	+	+	Злоякісні пухлини
NELL1 – neural epidermal growth factor-like protein 1	–	+	Злоякісні пухлини, лікарські засоби, АІЗ
SEMA3B – semaphorin 3B	+	+	Дитячі захворювання
PCDH7 – protocadherin 7	–	+	Похилий вік
HTRA1 – serine protease HTRA1	+	+	Жодного
NTNG1 – netrin G1	+	+	Жодного
EXT1/ EXT2 – exostosin	–	–	Системний червоний вовчак (СЧВ)
NCAM1 – neural cell-adhesion molecule 1	–	+	СЧВ
TGFBR3 – transforming growth factor beta receptor 3	+	–	СЧВ
CNTN1 – contactin 1	–	+	Демієлінізуюча полінейропатія
FAT1 – protocadherin FAT1	+	+	Трансплантація
NDNF – neuron-derived neurotrophic factor	+	+	Молоді чоловіки, сифіліс
PCSK6 – proprotein convertase subtilisin/kexin type 6	–	+	Тривалий прийом НПЗЗ

1.5.2 Імунопатогенез МН: роль системи комплементу та мембраноатакуючого комплексу

Відкладення імунних комплексів відіграє ключову роль у патогенезі МН [340]. Т-клітини беруть участь у розвитку МН, і цей механізм має тенденцію опосередковано впливати на В-клітини та гуморальний імунітет шляхом

регуляції запалення [341, 342, 343], Th17 також був пов'язаний з тромбозом і рецидивами у пацієнтів з мембранозною нефропатією [344]. Порівняно з Th17, Th2 більш безпосередньо пов'язаний із порушеннями гуморального імунітету при МН, а дисбаланс поляризації Th1/Th2 відіграє важливу роль у патогенезі МН [345, 346, 347]. Оскільки IgG, екстрагований із сироватки пацієнтів, не лише індукує апоптоз подоцитів, але також впливає на аутофагію подоцитів [348, 349], припускається, що дисбаланс поляризації Th1/Th2 може призвести до аномальної секреції IgG В-клітинами, що може призвести до пошкодження подоцитів [340].

Клінічні прояви МН неоднорідні, але більшість випадків (70–80%) проявляються непомітно та з високою 24-годинною протеїнурією ($>3,5$ г/24 год), пов'язаною з периферичним набряком або анасаркою та гіпоальбумінемією (<2 г/дл). Інші ознаки можуть виявлятися рідше, наприклад мікроскопічна гематурія (25–50%) та артеріальна гіпертензія (20–50%) [313]. Клінічна динаміка ІМН також неоднорідна і може представляти спонтанну повну ремісію (20–30% за 5 років, особливо якщо протеїнурія становить менше 8 г/добу), часткову ремісію (20–25% за 5 років), поступова еволюція до термінальної стадії хронічної хвороби нирок (40–50% за 10 років) або швидко прогресуючої гострої ниркової недостатності [313, 328].

Добре відомо, що система комплементу складається з класичного, альтернативного та манозозв'язуючого лектинових шляхів, які разом містять понад 30 білків, які беруть участь в активації та регуляції цієї системи [323]. З огляду на те, що комплекс атаки на мембрану комплементу C5b-9 може мати прямі клітинні ефекти, серія досліджень, проведених у 1980-х роках, показала роль активації C5b-9 на подоциті при експериментальній МН [339]. Наслідки активації C5b-9 у плазматичній мембрані включають утворення трансмембранних каналів або перебудову мембранних ліпідів із втратою цілісності мембрани. Реакція клітини, в тому числі клубочкових епітеліальних клітин, на C5b-9 відбувається не просто через руйнування плазматичної мембрани, а радше через активацію специфічних сигнальних шляхів. До таких

сигналів відноситься активація фосфоліпаз, протеїнкіназ, факторів транскрипції, факторів росту, протеїназ та ін. Зрештою, ці сигнали можуть впливати на клітинні метаболічні шляхи та структуру або функцію ліпідів і ключових клітинних білків у цитоскелеті, щільній діафрагмі чи інших структурах. Деякі сигнали негативно впливають на клубочкові епітеліальні клітини, тоді як інші обмежують ступінь пошкодження, викликаного комплементом, або сприяють відновленню. У деяких випадках активація одного шляху може призводити як до цитотоксичної, так і до захисної відповідей. Крім того C5b-9 індукує часткове розчинення актинового цитоскелету, спостерігається зниження експресії нефрину, зниження рівня F-актину нефрину та втрата цілісності щільної діафрагми [323].

Ключовий сигнальний шлях, активований C5b-9, включає вивільнення арахідонової кислоти фосфоліпазою A2 та подальший метаболізм до простагландинів, які можуть сприяти підвищенню клубочкового капілярного тиску, таким чином, що протеїнурия збільшується на основі гемодинаміки [323].

Утворення комплексу мембранної атаки (C5b-C9, MAC) призводить до активації факторів транскрипції, що кодують медіатори фіброзу та цитоскелетної перебудови подоцитів. Він також збільшує вироблення потенційно нефритогенних молекул, таких як активні форми кисню, прозапальні цитокіни, протеази та вазоактивні молекули [350].

Кілька досліджень показують, що C5b-9 може індукувати зміни в експресії компонентів базальної мембрани або ферментів, залучених до метаболізму позаклітинного матриксу. Варто зазначити, що активація комплементу бере активну участь у метаболізмі імунних комплексів шляхом обмеження їх розміру та взаємодії з рецепторами, відповідальними за їх очищення [323].

Найвичерпнішу на сьогоднішній день модель патогенезу МН представлено групою дослідників з *Китайю Liu W. та співавт.* (2020 р.) [324].

Патогени (частинки, які вдихаються, бактерії та віруси тощо) або інші причини, які впливають на позаниркові тканини, викликають запальну реакцію. У міру того, як дія подразника продовжується, запалення поступово переходить у фазу, в якій домінують макрофаги M1, що сприяє запаленню, і спричиняє пошкодження тканин [324].

Аутоантигени, такі як PLA2R та THSD7A, піддаються впливу позаниркового запального мікрооточення. Патогени або запалення посилюють імуногенність аутоантигену та впливають на здатність антигенпрезентуючих клітин переробляти антиген, що призводить до аутоімунної відповіді. З дозріванням спорідненості В-клітин до антигену та індукцією цитокінів Ig піддаються перемиканню класів у такій послідовності: IgM > IgG3 > IgG1 > IgG2 > IgG4 [324].

IgM, IgG3 або IgG1 можуть активувати систему комплементу та рецептори Fc, що призводить до запалення та пошкодження тканин. Згодом IgG2 конкурує з IgG1, щоб уповільнити запальний процес. Зазвичай після того, як нейтрофіли або макрофаги поглинають уламки/патогени, вони здійснюють апоптоз і видаляються макрофагами M2 та зменшують запалення і сприяють відновленню тканин, які виробляють високі рівні IL-10 і трансформуючого фактора росту (TGF)- β , що сприяє ремісії запалення. IL-10 і TGF- β , які продукуються макрофагами M2 або клітинами T-reg, індукували імунну відповідь, доміновану IgG4 [324].

Циркулюючі антитіла, які виробляються, зв'язуються з подоцитом, що призводить до розвитку МН. Анти-PLA2R1/THSD7A IgM або IgG3 можуть відкладатись у клубочках у дуже малих кількостях, спричиняючи раніше пошкодження клубочків. Однак через низьку спорідненість їм важко зв'язуватися з антигенами, природним чином експресованими в подоцитах, протягом тривалого часу. Згодом значні відкладення IgG1 індукували ранню МН (стадія I). IgG4 може конкурентно пригнічувати зв'язування IgG1 з антигенами з його вищою спорідненістю та досягати основної частки в імунному комплексі, що зрештою призводить до МН [324].

1.6 Імунопатогенез аутоімунного гепатиту

Печінка є важливим імунологічним толерогенним органом з унікальною здатністю створювати ефективні імунні відповіді проти гепатотропних патогенів, з одного боку, і підтримувати місцеву та системну імунну толерантність до власних і чужорідних антигенів, з іншого. Незважаючи на сильні периферичні та центральні толерогенні механізми, втрата толерантності може виникнути при аутоімунних захворюваннях печінки [351]. Аутоімунні захворювання печінки, такі як аутоімунний гепатит (АІГ), первинний біліарний холангіт, первинний склерозуючий холангіт та пов'язаний з IgG4 холангіт, є хронічними запальними захворюваннями печінки з аутоімунним фоном [352].

АІГ – це імуноопосередковане запальне захворювання печінки, спричинене втратою толерантності до власних антигенів гепатоцитів, що призводить до аутоімунного ураження печінки. АІГ характеризується гіпергаммаглобулінемією, наявністю циркулюючих аутоантитіл, ознаками гепатиту при гістологічному дослідженні печінки та демонструє ефективність імуносупресивної терапії. Передбачуваним механізмом розвитку АІГ вважається взаємодія між генетичною схильністю, пусковими факторами навколишнього середовища та недостатністю нативної імунної системи [353, 354, 355].

Захворюваність на АІГ зростає в усьому світі [356]. Показники захворюваності та поширеності АІГ у світі становлять 1,37 (95% довірчий інтервал (ДІ): 0,95–1,80) та 17,4 (95% ДІ: 12,0–22,9) на 100 тис. осіб відповідно. Сукупна річна захворюваність на АІГ для населення Азії, Європи та Америки становить 1,3 (95% ДІ: 0,4–2,2), 1,4 (95% ДІ: 1,1–1,6) та 1,0 (95% ДІ: 0,4–1,6) на 100 тис. осіб відповідно. Сукупна поширеність для азіатського, європейського та американського населення становить 13,0 (95% ДІ: 2,1–23,9), 19,4 (95% ДІ: 15,6–23,2) та 22,8 (95% ДІ: 13,5–59,1) на 100 тис. осіб відповідно. Вищі показники захворюваності та поширеності спостерігалися у жінок, ніж у

чоловіків, і вищий рівень поширеності спостерігався у літніх людей, ніж у молодих людей [357].

На жаль, характерної клінічної картини цього захворювання немає, що ускладнює його розпізнавання [356]. Перше спостереження АІГ датується 1940 р., коли було відзначено хронічний гепатит з високим вмістом білків у сироватці крові у жінок [358]. У 1956 р. *Maskay I.R. та співавт.* описали захворювання печінки, яке було визначено як «люпоїдний гепатит» [359]. Пізніше від цієї назви відмовилися та замінили на АІГ, оскільки стало зрозуміло, що червоний вовчак є окремою клінічною формою, яка рідко співіснує з АІГ у одного пацієнта [360].

1.6.1 Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при АІГ

Механізми, що лежать в основі патогенезу АІГ, до кінця не з'ясовані, хоча з'являється все більше доказів того, що молекулярна мімікрія та посилена презентація аутоантигену залучені до індукції аутоімунної відповіді, що призводить до активації аутореактивних лімфоцитів [351].

На імунну функцію печінки сильно впливає її ексклюзивна анатомія та її клітинний склад [351]. Печінка містить як звичайні, такі як дендритні клітини (ДК), В-клітини та макрофаги (клітини Купфера), так і нетрадиційні антигенпрезентуючі клітини (АПК), включаючи клітини синусоїдного ендотелію печінки, зірчасті клітини печінки та гепатоцити, які поглинають антигени, обробляють і представляють їх CD4⁺ та CD8⁺ Т-клітинам за допомогою канонічних та неканонічних механізмів, що призводить до ініціації та посилення імунних відповідей або індукції імунної толерантності [361]. Крім того, міжклітинне перенесення основних пептидних комплексів гістосумісності (*major histocompatibility complex* – МНС) через трогоцитоз і позаклітинні везикули може надати будь-якій клітині особливості АПК, хоча і з різними результатами. При аутоімунному ураженні печінки після презентації власного антигену АПК печінки активуються різні типи імунних клітин, таких як Th0, Th1 та Th2 CD4⁺ Т-клітини, Th17-клітини, цитотоксичні CD8⁺ Т-

клітини, регуляторні Т-клітини (T-reg), натуральні кілери (NK-клітини) та В-клітини разом із вивільненням цитокінів, включаючи інтерферон (IFN)- γ , трансформуючий фактор росту- β (TGF- β), інтерлейкін (IL)-10, IL-21, IL-2 та аутоантитіла [351, 361].

Відповідно до аутоантитіл, виявлених під час діагностики, можна ідентифікувати дві підгрупи АІГ: АІГ I типу (АІГ-1), що визначається наявністю антинуклеарних антитіл (ANA) та/або антитіл до гладких м'язів (SMA) та АІГ II типу (АІГ-2), пов'язаний з позитивною реакцією на аутоантитіла до печінкових/ниркових мікросомальних антитіл типу 1 (анти-LKM-1) або антитіл до цитозолу печінки типу 1 (анти-LC1) [351, 355].

Імунна регуляція в печінці значною мірою контролюється унікальними популяціями класичних, а також нетипових АПК, які можуть реагувати просторово-часово регульованим способом, що дозволяє точно налаштувати модуляцію місцевої та системної толерантності та імунітету [361]. До нетипових АПК відносять клітини Купфера, синусоїдальні ендотеліальні клітини печінки, зірчасті клітини печінки та навіть гепатоцити, які експресують лише низькі рівні МНС-I/II та коstimулюючі молекули в стабільному стані печінкового середовища [363].

Кількісний і якісний склад імунних клітин у печінці помітно відрізняється від вторинних лімфоїдних органів, таких як лімфатичні вузли, селезінка або периферична кров [363]. Співвідношення CD8⁺/CD4⁺ (3,5:1) печінкових Т-клітин є протилежним порівняно зі співвідношенням 1:2 для CD8⁺/CD4⁺ клітин, виявлених у периферичній крові, лімфатичних вузлах та селезінці. Існує підвищена частка CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺ і CD3⁺ CD4⁻ CD8⁻ Т-клітин у печінці, 15% Т-клітин експресують $\gamma\delta$ -TCR (рецептор Т-клітин, порівняно з 2,7% у селезінці). До 50% лімфоцитів, що знаходяться в печінці, представлені NK [364].

У печінці більшість ДК демонструють незрілий фенотип, який, на відміну від ДК у вторинних лімфоїдних органах, індукує толерогенне відхилення, а не імунітет, що супроводжується високою секрецією IL-10 і

низькою IL-12. IL-10, який також виробляється клітинами Купфера та T-reg, відіграє ключову роль у контролі запалення печінки: дефіцит або виснаження IL-10 посилює імуніопосередковане пошкодження печінки та скасовує індукцію толерантності [363]. Вважається, що імунна відповідь при АПГ ініціюється презентацією аутоантигенних пептидів Т-клітинному рецептору (TCR) некоммітованих Т-хелперних (Th0) лімфоцитів у межах молекули HLA-II АПК або в регіонарних лімфатичних вузлах, або в самій печінці (рис. 1.6.1).

Активовані Th0-клітини диференціюються в клітини Th1 або Th2 у присутності IL-12 або IL-4 відповідно до природи антигену. Це запускає каскад імунних реакцій, що визначаються цитокінами, які вони виробляють. Клітини Th1 секретують IL-2 та IFN- γ , цитокіни, які стимулюють цитотоксичні Т-лімфоцити (CTL), посилюють експресію молекул HLA I класу, індують експресію молекул HLA II класу на клітинах печінки та активують макрофаги. Макрофаг вивільняє IL-1 та фактор некрозу пухлини (TNF) [362, 365]. Клітини Th2 секретують переважно IL-4, IL-13 та IL-21 і стимулюють вироблення аутоантитіл В-лімфоцитами, які дозрівають у плазматичні клітини (табл. 1.6.1).

1.6.2 Взаємодія між T-reg та іншими клітинами при АПГ

T-reg клітини походять від Th0 у присутності TGF- β . Якщо T-reg є дефектними за кількістю та/або функціями, руйнування гепатоцитів є наслідком залучення пошкоджуючих ефektorних механізмів, включаючи CTL, цитокіни, що вивільняються Th1 та активованим макрофагом. Активація комплементу або адгезія НК-клітин до вкритих аутоантитілами гепатоцитів відбувається через їх Fc-рецептори [362, 365].

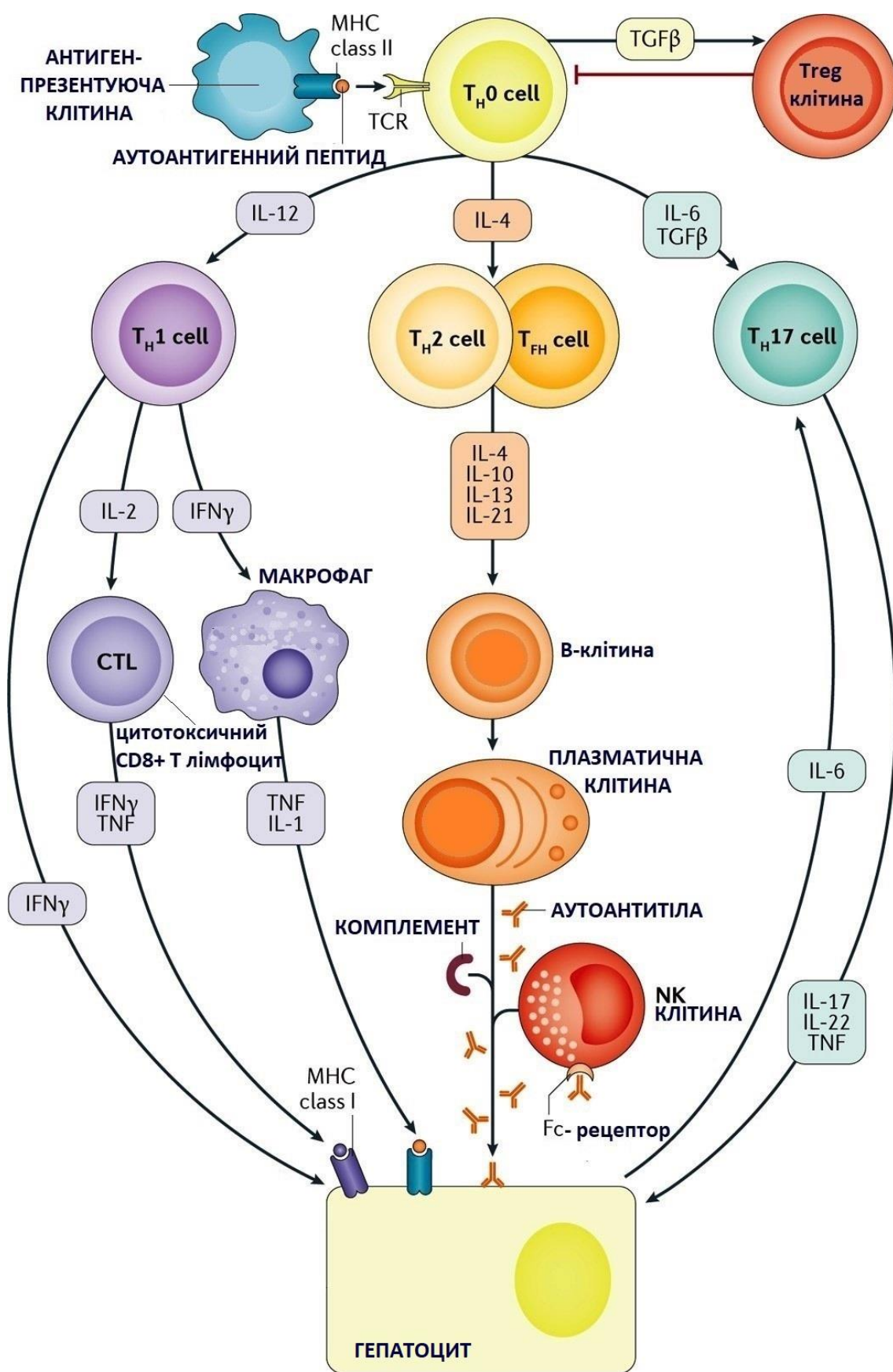


Рис. 1.6.1 Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при АІГ
(адаптовано за [362])

Таблиця 1.6.1

Антитіла при АІГ (адаптовано за [351])

Аутоантитіла	Цільовий антиген	Тип АІГ	Частота
Антинуклеарні антитіла (ANA)	Хроматин, гістони, центріомери, двомірна ДНК, одномірна ДНК, циклін А, рибонуклеопротейн	АІГ-1	50–70%
Антитіла до гладких м'язів (SMA)	Філаментний актин, актин, тубулін, проміжні філаменти	АІГ-1	50%
Антитіла до печінково-ниркових мікросом типу 1 (Anti-LKM-1)	Цитохром P4502D6	АІГ-2	85%
Антитіла до печінково-ниркових мікросом типу 3 (Anti-LKM-3)	Уридиндифосфат-глюкуронозилтрансфераза	АІГ-2	рідко
Антитіла до розчинного печінкового антигену/печінково-підшлункової залози (Anti-SLA/LP)	О-фосфосериновий тРНК: селенокістейновий тРНК синтаза (SepSecS)	АІГ-1, АІГ-2	10–20%
Перинуклеарні антитіла до цитоплазми нейтрофілів (p-ANCA)	Різні цитоплазматичні антигени	АІГ-1	36–50%
Антитіла до цитозолу печінки типу 1 (Anti-LC-1)	Форміотрансферазна циклодеаміназа	АІГ-2	30%
Антитіла до рецептора асіалоглікопротеїну (Anti-ASGP-R)	Азіалоглікопротеїновий рецептор	АІГ-1, АІГ-2	24–82%

Клітини Th17 продукують запальні цитокіни IL-17, IL-22 та TNF і походять від клітин Th0 у присутності TGF- β та IL-6. Гепатоцит вивільняє IL-6, який додатково стимулює Th17 [362, 365].

Участь Th 17, який секретує прозапальні цитокіни IL-17, IL-22 та TNF α і сприяє секреції IL-6 гепатоцитами, була досліджена зовсім нещодавно. У

дослідженні *Zhao L. та співавт.* [366] встановлено, що кількість IL-17-позитивних клітин, ідентифікованих за допомогою імуногістохімії, була вищою в запальному інфільтраті печінки при АІГ порівняно з пацієнтами з хронічним гепатитом В при сівставляюваній легкій біохімічній та гістологічній активності захворювання.

Втрата толерантності до власних антигенів, пов'язана з **дисфункцією T-reg**, є центральною в патогенезі АІГ [367]. T-reg складають 5–10% циркулюючих T-клітин CD4⁺ і конститутивно експресують поверхневий маркер CD25, який є субодиницею рецептора IL-2- α , і не мають експресії CD127, ланцюга α рецептора IL-7. T-reg відіграють центральну роль у підтримці імунної толерантності та були широко вивчені при АІГ, надаючи переконливі докази функціональних та численних порушень у цьому стані [365, 368].

У пацієнтів з АІГ як I так і II типів кількість T-reg є зниженою, і це зменшення є більш очевидним при діагностиці та під час рецидивів, ніж під час медикаментозної ремісії [370]. Відсоток T-reg обернено корелює з маркерами активності захворювання, тобто титрами аутоантитіл проти розчинного печінкового антигену (SLA – *soluble liver antigen*) та печінково-ниркового мікросомального антитіла типу 1 (LKM1 – *liver kidney microsomal antibody type 1*), що свідчить про те, що зниження кількості T-reg сприяє аутоімунітету, зосередженому на печінці [369].

Крім того, T-reg від пацієнтів з АІГ на момент встановлення діагнозу менш здатні контролювати проліферацію ефektorних клітин CD4 і CD8 порівняно з T-reg, виділеними від пацієнтів з АІГ під час ремісії захворювання або від здорових добровольців [370]. Через зв'язування галектину-9, що експресується T-reg, індукується загибель ефektorних клітин [371].

Таким чином CD8⁺ T-клітини, Th17-клітини, Th22-клітини і Th1-клітини сприяють запальному ураженню печінки при АІГ (рис. 1.6.2). Перераховані клітини пригнічуються T-reg клітинами. Синусоїдальні ендотеліальні клітини печінки та NK-клітини сприяють активності T-reg, тоді

як гемопоетичні стовбурові клітини можуть стимулювати супресивну дію T-reg при АІГ.

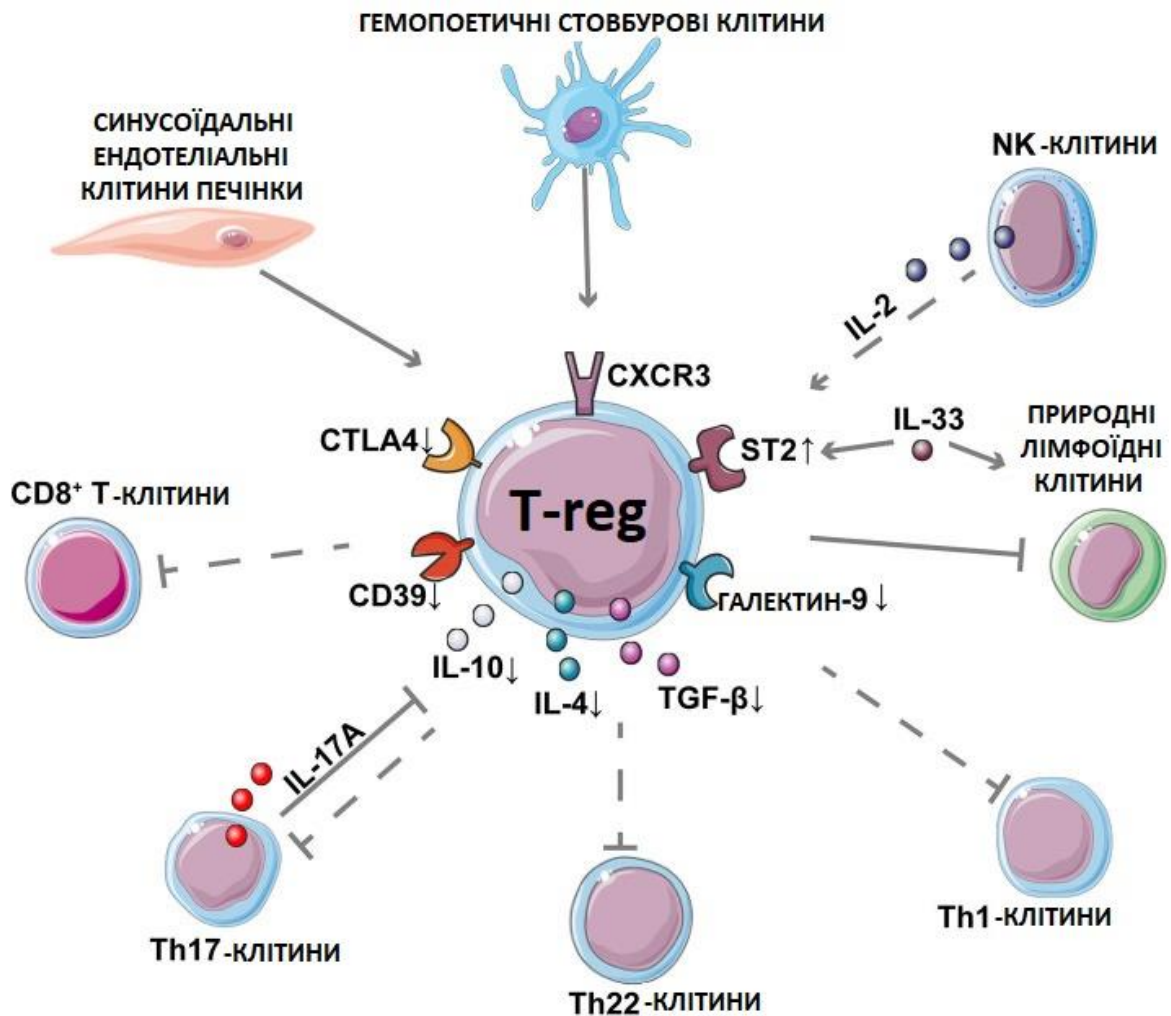


Рис. 1.6.2 Взаємодія між T-reg та іншими клітинами при АІГ (адаптовано за [372])

Примітки.

1. Пунктирними лініями позначено інгібуючий вплив.
2. Закінчення лінії перпендикуляром вказує на прямий вплив або взаємодію між T-reg та іншими клітинами або молекулами.
3. CXCR3 – хемокінетичний рецептор типу 3;
4. ST2 – супресор пухлиногенності 2;
5. CTLA-4 – цитотоксичний Т-лімфоцитарний антиген 4.

При АІГ CD39+ T-reg (CD39 є маркером високоактивних і супресивних T-reg) зменшується в кількості, вони не гідролізують належним чином прозапальні нуклеотиди та не контролюють ефективно продукцію IL-17 ефекторними T-клітинами. CD39+ T-reg виявляють пластичність і стають нестабільними в запальному середовищі, що свідчить про те, що порушення імунорегуляції при АІГ є результатом не тільки порушення кількості та функції T-reg, але й переходу T-reg в ефекторні клітини (див. рис. 1.6.2) [365, 373].

Крім того, повідомляється, що T-reg у пацієнтів з АІГ не здатні регулювати проліферацію CD8+ T-клітин і вироблення цитокінів, що може сприяти ініціації пошкодження апи АІГ [372].

Залучення петлі **диференціювання Th2-клітин** до АІГ підтверджується наявністю плазматичних клітин у пошкодженій печінці та циркулюючих аутоантитіл, що є ключовою ознакою АІГ, де вони діють як діагностичні та класифікаційні маркери. Примітно, що аутоантитіла можуть завдати шкоди самі по собі через опосередковану антитілами цитотоксичність і активацію комплементу [374].

Печінкові **NK-клітини** залишаються резидентними в печінці та, як і NKT-клітини, активуються IL-12/IL-18, стаючи цитотоксичними та виробляючи IFN-γ. NK-клітини прямо чи опосередковано взаємодіють з печінковими АПК, такими як клітини Купфера та ДК, для контролю імунної регуляції печінки [361, 375]. Клітини Купфера мають вирішальне значення для підтримки NK-опосередкованої толерантності в печінці, оскільки вони є основними продуцентами IL-10 і TLR-індукованого вивільнення IL-18. З одного боку, IL-10 пригнічує активацію NK-клітин і підтримує їх гіпореактивний стан, тоді як IL-18 потенційно стимулює активність NK-клітин, особливо коли рівні IL-10 низькі [376].

На сьогодні більшість пацієнтів з АІГ, які лікуються класичними методами лікування, демонструють довгострокову повну відповідь на лікування, але залишаються на довічній імуносупресивній терапії. Близько 10–

20% пацієнтів не відповідають на терапію та демонструють прогресування захворювання до цирозу та термінальної стадії захворювання печінки [365].

Терапевтичне застосування поліклональних T-reg наразі є варіантом лікування АІГ-1. Триваюче відкрите клінічне дослідження NCT01988506 вивчає застосування низькодозової терапії ІЛ-2 для посилення функцій T-reg при аутоімунних і запальних захворюваннях, включаючи АІГ. Попередні результати продемонстрували, що розмноження та активація T-reg без ефекторної активації T-клітин має хорошу переносимість [377]. Експерименти *in vitro* показали можливість генерувати антиген-специфічні T-reg у пацієнтів з АІГ-2, які здатні пригнічувати цитотоксичну активність CD8⁺ T-клітин [378]. Тим не менш, необхідні подальші дослідження для підтримки стабільного та функціонального фенотипу T-reg у запальному мікрооточенні печінки [351].

1.7 Перспективи застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів у комплексному лікуванні хворих на аутоімунну патологію

Найбільш ефективним способом зниження захворюваності, підвищення резистентності організму та покращення якості життя є зміцнення загального неспецифічного імунобіологічного статусу [309]. Значущий прогрес у розвитку біотехнологій, фармакології та медицини відкриває можливості для впливу на функціонування окремих ланок імунної системи [7]. Імунна система представляє складну динамічну структуру, яка включає гени, молекули, клітини та органи, що взаємодіють у складних мережах з метою ефективної протидії різноманітним загрозам для організму [379].

Препарати, здатні впливати на імунні процеси, називають імунотропними, до них належать **імуномодулятори** – засоби, що впливають на імунну систему залежно від її початкового стану, підвищуючи знижені (імуностимулятори) або знижуючи підвищені (імуносупресори) показники імунного статусу [381, 382, 383]. Єдиної уніфікованої класифікації

імуномодуляторів, визнаної у всьому світі, на сьогодні немає [384, 385]. У класифікації **Bascones-Martinez A. та співавт.** [386] наведено поділ імуномодуляторів на стимулятори та супресори імунної відповіді, в той час як у класифікації, запропонованій **Корсунською О.І. та Нефьодовим О.О.** [382] в окрему групу імуномодуляторів виділено протиалергійні засоби. Інтегровану класифікацію імуномодуляторів наведено у табл. 1.7.1.

Таблиця 1.7.1

Класифікація імуномодуляторів за типом дії [382, 386]

Імуномодулятори		
Імуностимулятори	Імуносупресори	Протиалергічні
1. Бактеріальні та грибкові препарати (бацила Кальмета-Герена, мурамідипептид та ін.) 2. Рекомбінантні цитокіни (ІЛ-1, 2, 12 та ін.) 3. Моноклональні антитіла (специфічні антитіла) 4. Вакцини (антигени) 5. Синтетичні імуностимулятори (левамізол, ізопрінозин та ін.) 6. Інші імуностимулятори	1. Глюкокортикостероїди (преднізолон, дексаметазон та ін.) 2. Цитостатики (азатіоприн, циклофосфамід, лефлуномід та ін.) 3. Антилімфоцитарні антитіла (поліклональні антитіла) 4. Моноклональні антитіла (муромонаб, антицитокіни та ін.) 5. Інші імуносупресори	1. Антигістамінні препарати – I покоління (гідроксизин, дифенгідрамін та ін.) – II покоління (дезлоратадин, фексофенадин та ін.) 2. Стабілізатори мембран тканинних та циркулюючих базофілів (кетотифен та ін.) 3. Антагоністи лейкотрієнових рецепторів (монтелукаст та ін.) 4. Інші протиалергічні

Імуностимулятори призначають для посилення імунної відповіді проти інфекційних захворювань, пухлин, первинного або вторинного імунодефіциту та ін. [385]. Імуносупресивні препарати використовуються для зниження імунної відповіді проти трансплантованих органів та для лікування аутоімунних захворювань, таких як ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, пемфігус (пухирчатка) та ін. [386].

Імуномодулятори діють на різні рівні імунної системи. Тому були розроблені різні види ліків, які вибірково пригнічують або посилюють специфічні популяції та субпопуляції імуночутливих клітин, тобто лімфоцитів, макрофагів, нейтрофілів, природних клітин-кілерів (NK) та цитотоксичних Т-лімфоцитів (*cytotoxic T lymphocyte – CTL*). Імуномодулятори впливають на клітини, що виробляють розчинні медіатори, зокрема цитокіни [387].

При аутоімунних захворюваннях функціональна та структурна цілісність певних клітин, органів і тканин втрачається через хронічні імунні реакції проти клітин, органів і тканин організму. Аутоімунні захворювання недостатньо вивчені і велика група захворювань виникає внаслідок неправильної імунної реакції проти антигену організму. У більшості аутоімунних захворювань спостерігалось запалення внаслідок асоціації аутоантигенспецифічних Т-клітин та антигенпрезентуючих клітин (*antigen-presenting cell – APC*) [388]. Як правило, запалення та руйнування клітин, тканин або органів виникають через відсутність толерантності до власних антигенів та появу аутоантитіл на додаток до клітинної імунної відповіді [389]. Аутоімунні захворювання можна класифікувати на дві групи (органоспецифічні та системні) на основі їх поширення в конкретному органі або в усьому організмі [390]. При органоспецифічних аутоімунних захворюваннях імунну реакцію викликають аутореактивні імунні клітини (В-і Т-клітини), які обмежені певними органами. Важливими органоспецифічними аутоімунними захворюваннями є розсіяний склероз, хвороба Крона, діабет I типу, аутоімунний тиреоїдит, аутоімунний міокардит та ін. [388].

Аутоімунні захворювання є гетерогенною групою хронічних станів, зумовлених втратою імунологічної толерантності до власних антигенів, які можуть вражати практично будь-яку систему органів у людей будь-якого віку. Хронічний характер цих захворювань створює значний тягар для медичної допомоги, збільшує прямі та непрямі економічні витрати та знижує якість

життя пацієнтів [391]. Патологічна активація Т-клітин є основною ознакою багатьох аутоімунних захворювань. Критична роль Т-клітинного розпізнавання аутоантигенів при аутоімунних захворюваннях, мабуть, найбільш чітко ілюструється високими ефектами локусів МНС класу II як алелів ризику для багатьох аутоімунних захворювань. Основною функцією МНС класу II є представлення антигену CD4⁺ Т-клітинам, що переконливо свідчить про те, що представлення відповідних антигенів CD4⁺ Т-клітинам є критично важливим фактором у розвитку аутоімунних захворювань, таких як ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, розсіяний склероз, діабет 1 типу та ін. [392].

Існує кілька молекулярних механізмів, які пояснюють зв'язок між COVID-19 і аутоімунітетом. По-перше, молекулярна мімікрія може активувати перехресно реактивні Т-клітини, оскільки вірусні антигени імітують антигени господаря. По-друге, коронавірусна інфекція може призвести до локального запалення легень та накопичення альвеолярних макрофагів, стимуляції нейтрофілів (*син. polymorphonuclear leukocytes – PMN*) до секреції мієлопероксидази та еластази, що супроводжується збільшенням моноцитарного хемотаксичного білка 1 типу (*monocyte chemoattractant protein 1 – MCP-1*) та ІЛ-8, що зрештою призводить до деструкції легень. По-третє, продукція запальних цитокінів активує В-клітини, що призводить до руйнування аутоімунітету аутоантитілами. А інтерферон- γ активує аутореактивні Т-клітини, «природні клітини-кілери» (*natural killer*) та стимулює цитотоксичні лімфоцити, та викликаючи окисне пошкодження тканини [393].

В даний час основною метою досліджень аутоімунних хвороб є пошук більш ефективних підходів до лікування. Існуючі методи лікування можуть полегшити лише деякі аутоімунні симптоми, але не мають специфічності, і їх потрібно призначати на тривалий період [394].

Складність та гетерогенність аутоімунної відповіді виявилася складною для розробки цільових методів лікування, оскільки вони необхідні для

достатнього очищення імунної системи від аутореактивності, зберігаючи нормальну функціональну сторону імунної системи [395]. Різноманітність клітинної та безклітинної терапії (*cell-free therapy*) в даний час досліджується для лікування та профілактики аутоімунних захворювань. Існують клітинні методи лікування, такі як *ex vivo* розширені поліклональні T-reg або T-reg, трансдуковані аутоантигенспецифічним T-клітинним рецептором (*T-cell receptor – TCR*), химерним антигенним рецептором (*chimeric antigen receptor – CAR*) або іншими химерними рецепторами, такими як пептид-МНС. Інший клітинний підхід використовує імунорегулюючі ефекти толерогенних ДК. Фекальна трансплантація специфічних бактерій, що сприяють T-reg, також може бути корисною. Безклітинна терапія включає біологічні препарати, такі як терапія низькими дозами ІЛ-2, терапія агоністами фактора некрозу пухлин II типу (*tumor necrosis factor receptor 2 – TNFR2*) та антитіла до CD20 (ритуксимаб). Ліки, такі як рапаміцин, також можуть сприяти проліферації T-reg. Нарешті, комбінація таких терапевтичних підходів може бути більш ефективною, ніж монотерапія [396].

Багато сучасних методів лікування аутоімунних захворювань є неспроможними в цьому відношенні, оскільки вони не є специфічними для аутоімунних захворювань, але системно послаблюють імунну відповідь. Сучасним стандартом лікування більшості аутоімунних захворювань є **імуносупресивні препарати**, такі як кортикостероїди, які **мають власні побічні ефекти, включаючи ризик тяжких інфекцій і потенціювання раку**. Біопрепарати, зазвичай антитіла, спрямовані на один компонент імунної системи, починають використовуватися для лікування певних груп пацієнтів з аутоімунними захворюваннями, що є перспективним кроком до більш безпечної терапії, однак їх ефективність ще досліджується [397, 398].

Класифікація імуномодуляторів за напрямком дії (див. табл. 1.7.1) відображає лише поділ препаратів за їх активністю, проте не враховує їх походження. Зважаючи, що більшість імуномодуляторів є не продуктами

хімічного синтезу, а біотехнологічними засобами, доцільно навести одну з класифікацій зазначених засобів за походженням (табл. 1.7.2).

Таблиця 1.7.2

Класифікація імуномодуляторів за походженням

(модифіковано за [382])

Імуномодулятори		
Ендогенного походження	Екзогенного походження	Синтетичні препарати
1. Препарати органів/тканин ссавців – препарати тимуса – препарати плаценти – препарати селезінки – препарати молозива 2. Препарати цитокінів – препарати інтерлейкінів – препарати інтерферонів – фактори росту	1. Препарати дріжджів 2. Бактеріальні препарати – пептидоглікани бактерій – полісахариди бактерій – імунопробіотики та ін. 3. Рослинні препарати <i>(ехінацея та ін.)</i>	1. Синтетичні пептиди <i>(α-глутаміл-триптофан, інозин пранобекс (гроприносин), левамизол та ін.)</i> 2. Індуктори інтерферогенезу

Ендогенні імуномодулятори – це олігопептиди, що активують імунну систему за рахунок посилення проліферації та стимуляції функції імунних клітин [384].

Ендогенні імуномодулятори представлені в основному пептидами, виділеними зі спеціалізованих органів, епітеліальних тканин та крові тварин, зокрема свиней та великої рогатої худоби. Найбільшого поширення набули імуномодулятори на основі тимуса, селезінки, плаценти, лімфатичних вузлів та ін. [23].

Препарати тимуса є нативними гормональними поліпептидами з молекулярною масою до 5 кДа. Їх дія спрямована на нормалізацію та посилення функціональної активності Т-системи імунітету та кровотворення, посилення клітинних імунних реакцій, системи згортання та антизгортання крові, нейроендокринної регуляції та репаративної регенерації тканин [23, 399,

400]. Імунорегулятори селезінки – це тимусзалежні, тимуснезалежні та макрофагальні фактори імунітету: неспецифічний сироватковий тетрапептид-туфцин, що міститься у Fd-фрагменті IgG, який активує функціональні властивості макрофагів та поліморфноядерних лейкоцитів; компоненти комплементу – C3 та C4-фрагменти (наприклад, C3b); фактор Р та ін. [401]. Ці препарати значно підвищують вміст Т-лімфоцитів у периферичному кровообігу та їх функціональну активність, нормалізують вільнорадикальне перекисне окислення ліпідів, стимулюють репаративні та трофічні процеси. Також імуномодуючі препарати тваринного походження представлені препаратами на основі пептидних фракцій, виділених із ембріональної тканини, подібні препарати стимулюють активність NK-клітин, активізують процеси регенерації крові, в тому числі препарати Ig (гістаглобулінів, пентаглобінів та ін.) та антимікробних пептидів [402].

Основною перешкодою для більш широкого використання біологічних препаратів у клінічній практиці є нетривалий строк їх зберігання у функціонально повноцінному стані [30]. Подовження строків зберігання та розширення сфери використання біологічних препаратів у клінічній практиці можливе завдяки сучасним кріобіологічним технологіям [30]. На сьогодні тривале зберігання біологічних об'єктів проводиться при температурі від -20 до -80°C або ж в рідкому азоті (-196°C). Однак такі процеси, як кристалізація, рекристалізація, плавлення, що супроводжують охолодження до низьких температур та подальше відігрівання біологічних систем, можуть викликати в них структурно-функціональні зміни [403].

Розанова С.Л. та співавт. [30] встановили, що зберігання плаценти при -196°C (у рідкому азоті) протягом 6 місяців не приводило до значних змін антиоксидантної активності отриманих з неї екстрактів.

1.7.1 Кріоекстракт плаценти людини

КЕП вперше отримано науковцями ІПКіК НАН України, які розробили та впровадили в практику унікальну методику його тривалого зберігання у

низькотемпературному середовищі [24, 25, 404]. Екстракт плаценти являє собою комплекс низькомолекулярних пептидів, екстрагованих з плаценти, які включають різноманітні біологічно активні речовини, такі як Ig, біоактивні пептиди та гормони, а також амінокислоти та мінерали [27].

Плацента є унікальним тимчасовим органом, який забезпечує спільне існування плоду, що розвивається, та материнського організму. Він функціонує для підтримки кровопостачання плоду, а також видалення метаболічних відходів та запобігання імунного відторгнення [405]. При цьому плацента відіграє важливу імуномодулюючу роль, щоб підготувати та підтримувати середовище, сприятливе для розвитку плоду. Невід'ємною частиною цієї ролі є дія стовбурових клітин (плацентарних МСК) на імунну систему матері [410, 411].

Зовнішній шар бластоцисти, який стає трофобластом та утворює зовнішній шар плаценти, практично не експресує зв'язаний з HLA, а інші клітини плаценти експресують дуже низьку кількість класичних HLA типів A, B та C, що ускладнює розпізнавання цих клітин імунною системою [406, 407, 408]. Крім того, трофобласт експресує некласичний MHC, який властивий вагітності та включає HLA типів E, F та G [409].

Плацентарні МСК так саме експресують HLA типу G, який, як відомо, пригнічує функцію та проліферацію Т-клітин [412]. Плацентарні МСК запобігають проліферації та вивільненню цитокінів Th1, водночас індукуючи експресію та секрецію Th2 цитокінів [413]. Крім того, зазначені МСК індукують диференціювання Т-регуляторних лімфоцитів, поляризацію Th2, пов'язану з підвищенням рівня ІЛ-4 та ІЛ-10, та індукцію Th17, які виробляють високі концентрації ІЛ-6 та ІЛ-7. Це досягається шляхом прямого контакту плацентарних МСК з Т-клітинами та секреції розчинних цитокінів та протизапальних медіаторів [414], які слугують для ослаблення активності Т-клітин. Такий самий протизапальний ефект спостерігався на інших типах клітин, включаючи В-клітини [415], макрофаги [416] та ДК [405, 417].

Розумно припустити, що клітини, виділені з плаценти, можуть мати унікальні імуномодуючі властивості, які потенційно можуть забезпечити терапевтичні переваги, особливо при запальних та аутоімунних захворюваннях. Для таких терапевтичних показань активно вивчаються адгезивні клітини, отримані з плаценти (*placenta-derived adherent cells – PDAC*), наприклад препарат «Cenplacel-L» (PDA-001) для внутрішньовенного застосування, який зараз перебуває в стадії клінічних досліджень [418, 419]. Адгезивні клітини, отримані з плаценти, являють собою розширену культуру, недиференційовану мезенхімальну популяцію, отриману з тканини плаценти [418, 420].

Інші механізми захисту трофобласта від імунної агресії матері включають апоптоз-індукуючі ліганди FasL (*Fas ligand*) та TRAIL (*positive regulation of interleukin*), які впливають на імунокомпетентні клітини [406, 421]. Під час вагітності відбувається збільшення кількості лімфоцитів Th2, які виділяють протизапальні інтерлейкіни ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-9, ІЛ-10 та ІЛ-13, і зменшення кількості лімфоцитів Th1, які виділяють прозапальний інтерферон- γ . Це явище визначається дією прогестерону, а також здатністю клітин плаценти виділяти певний різновид цитокінів. Виявляється також зменшення кількості NK-клітин, але воно компенсується активацією неспецифічного імунітету [409]. У зв'язку з цим відмічено, що вагітність часто супроводжується ремісією аутоімунних захворювань, таких як розсіяний склероз та ревматоїдний артрит [406, 409, 418].

У тканинах плаценти відмічається висока активність деяких ферментів: дихальні ферменти (моноамінооксидаза, система цитохромоксидаз), каталаза, нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат-діафори, сукцинатдегідрогеназа, системи гістамін-гістаміназа, ацетилхолін-ацетилхолінестераза, фактори згортання крові та фібринолізу та ін. У плаценті відбувається синтез білків, що відносяться до класу ІЛ – ІЛ1, ІЛ6, ІЛ8, ІЛ2. Крім того, до складу препаратів плаценти входить низка факторів росту: гепатоцитів (*hepatocyte growth factor – HGF*), інсуліноподібний (*insulin-like growth factor – IGF*), фібробластів

(*fibroblast growth factor – FGF*), епідермальний (*epidermal growth factor – EGF*), нервів (*nerve growth factor – NGF*), колонієстимулюючий (*colony stimulating factor – CSF*) та ін. [24, 25, 26, 404]. Фактор росту нервів (*nerve growth factor – NGF*) є глікопротеїном, який залучається до специфічних рецепторів на поверхні нервових клітин, що активує різноманітні сигнальні шляхи. Це призводить до збільшення проліферації та міграції нервових клітин, а також збільшення синаптичних зв'язків між ними. Гепатоцитарний фактор росту (*hepatocyte growth factor – HGF*) відіграє важливу роль у регулюванні різних процесів у тканинах, включаючи проліферацію, міграцію та диференціацію клітин. HGF також може стимулювати регенерацію нервових тканин та зменшувати запалення. Інсуліноподібний фактор росту (*insulin like growth factor – IGF*) впливає на клітинний ріст та розмноження, збільшення продукції білків та стимулювання регенерації тканин. IGF може також допомагати відновленню нервових тканин та сприяти розвитку синапсів. Фібробластовий фактор росту (*fibroblast growth factor – FGF*) регулює різні процеси регенерації тканин, включаючи проліферацію, міграцію та диференціацію клітин. FGF також може знижувати запалення та покращувати загоєння ран. Епідермальний фактор росту (*epidermal growth factor – EGF*) має важливу роль у регулюванні процесів репарації тканин, зокрема відновлення епітелію та регенерацію нервових тканин [24, 25, 26, 404].

Екстракти плаценти застосовуються для лікування широкого спектра патологічних станів [406]. Багаторічні дослідження показали, що екстракт плаценти впливає на органи-мішені, стимулюючи їх функціонування, та підвищує неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища та стресових чинників, стимулює репаративні властивості клітин при пошкодженнях та захворюваннях різного генезу [24, 25, 26, 404].

Високу ефективність КЕП продемонстровано при лікуванні ран, незагойних виразок та опіків: значно підвищилася швидкість епітелізації, відзначено зменшення інфільтрату та зменшення больового синдрому [422,

423]. Екстракти прискорюють загоєння ран у тварин з моделлю діабету, що можна інтерпретувати як лікування діабетичної нейропатії та ангіопатії [424]. Експериментальні дослідження впливу екстрактів плаценти на поведінку та фізичний стан на моделі тварин показали зменшення симптомів втоми та підвищення стійкості до фізичного стресу [406].

Цитопротекторні та антиоксидантні властивості екстрактів зазвичай пов'язані з білковими компонентами; зокрема, вони корелюють з концентрацією α -фетопротейну [406]. Дослідження на тваринних моделях показали, що профілактичне введення екстракту плаценти підвищує стійкість тварин до окислювального стресу [425]. Екстракти плаценти зменшують концентрацію вільних радикалів, запальних цитокінів ІЛ-1,6 та фактору некрозу пухлин, одночасно збільшуючи утворення колоній клітин-попередників *in vitro* та зменшуючи окисне та радіаційне пошкодження клітин [406, 426].

Кошурба І.В. [404, 427, 428]. представив узагальнення власних експериментальних досліджень, в яких показав, що застосування КЕП проявляє виразну противиразкову активність як на класичних моделях виразкової хвороби (серотонінова, спиртово-преднізолонова, оцтовокисла, стресова) та і на моделях медикаментозного ульцерогенезу – при виразках шлунка, індукованих нестероїдними протизапальними засобами.

Шепітько К.В. [429, 430] встановив ефективність використання препаратів плаценти в умовах експериментального гострого асептичного перитоніту за даними патоморфологічних досліджень СО кишківника.

Білаш С.М. [431] довів доцільність застосування КЕП у комплексній терапії гострого λ -карагінен-зумовленого запалення шлунка.

Гуліда М.О. та співавт. [432] продемонстрували клінічну ефективність КЕП за внутрішньосуглобового введення хворим на РА.

Капустянська А.А. [433] встановила, що доповнення схеми лікування подагричного артриту КЕП у пацієнтів з ожирінням призводить до нормалізації ліпідного та пуринового обмінів у цих пацієнтів.

Грищенко М.Г. та співавт. [434] довели ефективність застосування КЕП для індукції ефективної суперовуляції на моделі хронічного запалення яєчників у мишей. Застосування кріоконсервованих препаратів плаценти чинило лікувальну дію за антифосфоліпідного синдрому, а також вони успішно використовувались з метою імунізації вагітних [435, 436].

Ляхно І.В. [437] показав ефективність клінічного застосування кріоконсервованої суспензії плаценти з метою лікування фетоплацентарної недостатності.

Борута Н.В. та співавт. [438] за даними комплексного морфологічного дослідження встановили, що застосування кріоконсервованої плаценти позитивно впливає на морфофункціональний стан компонентів червоного кісткового мозку та еритробластних островців.

Рєпін М.В. та співавт. [439] показали здатність КЕП чинити нефропротекторну дію шляхом нормалізації морфофункціонального стану нирок.

Ковальов Г.О. та співавт. [440]. продемонстрували, що препарати плаценти проявляють виразний стимулюючий вплив на процеси репарації на моделі холодових ран, у тому числі шляхом зменшення мікробного обсеменення.

Ліхницький О.О. [441] довів стимулюючий вплив кріоконсервованих препаратів плаценти на репаративний остеогенез після травматичного ушкодження.

Куцевляк В.Ф. та співавт. [442] встановили, що введення КЕП людини тваринам з експериментальним генералізованим пародонтитом сприяло нормалізації підвищеної концентрації гідроперекисів ліпідів у плазмі крові та підвищення глутатіон-пероксидазної активності плазми крові та печінки, яка знижувалася при розвитку патології.

Шепитько К.В. та співавт. [443] продемонстрували ефективність кріоконсервованих препаратів плаценти у лікуванні хворих на стабільну стенокардію напруги.

Кондаков І.І. [444] довів, що введення кріоконсервованої плаценти призводить до зниження вмісту загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності, що викликає, у свою чергу, зменшення коефіцієнта атерогенності та сприяє прискореному регресу експериментального атеросклерозу.

Нарожний С.В. та співавт. [445] встановили наявність антиагрегантної ефективності у екстрактів кріоконсервованої плаценти в альбінатних носіях.

Узагальнення значної кількості доклінічних та клінічних досліджень ефективності КЕП у лікуванні широкого кола захворювань, у тому числі наведених вище, знайшли своє відображення у монографіях **академіка НАН України Гольцева А.М. та співавт.** [24] та монографії Гладких Ф.В. [26].

Технологія одержання КЕП. Донорами плаценти виступають здорові породіллі, обстежені аналогічно донорам крові. Плацента заготовлюється після операції кесарів розтин. Препарати підлягають обов'язковому обстеженню на пренатальні інфекції, сифіліс, синдром набутого імунodefіциту людини (СНІД), гепатити А, В, С, цитомегаловірусну інфекцію та ін. [446].

Перед кріоконсервуванням плаценту відмивають від крові, фрагментують, відділяють амніотичну оболонку та занурюють у флакони із трикомпонентним розчином, який містить 200 мл 0,9 % розчину КСІ або NaCl, 250 мг канаміцину та 4 мл димексиду [443, 447].

Після фрагменти плацентарної тканини занурюють у флакон із 500 мл 0,9 % розчину NaCl. Флакон збовтують впродовж 1–2 хв, зливають надосад та доливають новий фізіологічний розчин. Цю процедуру повторюють 5–6 разів. До диспергованої тканини додають 0,9 % розчину NaCl (1:2), витримують 24 год. при температурі 4°C та центрифугують 15–20 хв при 4000 об/хв.

Одержаний надосад фільтрують через міліпорові фільтри (діаметр 0,22 мкм), фасують в ампули прозорого скла по 1,8 мл та **зберігають у рідкому азоті при –196°C** [24, 25].

Використання низьких температур у процесі переробки біологічної сировини сприяє повнішому руйнуванню клітин та їх мембран і зрештою виходу у розчин біологічно активних речовин. Згідно з сучасними кріобіологічними уявленнями основними чинниками, що призводять до кріопшкодження клітин у процесі ‘заморожування – відігріву’, вважають формування і зростання внутрішньо- і позаклітинних кристалів льоду, підвищення концентрації речовин зовні та всередині клітини, зміну іонної сили та рН розчину, а також дегідратацію клітин [24, 25, 448]. Використання низьких температур та різних режимів заморожування у процесі переробки біологічної сировини дозволяє досягти більшої екстрактивності біологічно активних компонентів, що сприятиме високій активності кінцевого продукту [24, 25, 448].

Згідно з рекомендаціями, запропонованими **проф. Прокопюк О.С. та співавт.** [25, 448] для отримання КЕП з ділянок материнської поверхні плаценти відокремлюють фрагменти масою 100 г, поміщають у флакон з середовищем 199 (співвідношення 1:1), заморожують до -80°C за допомогою програмного заморожувача ЗП-10 (ІПКіК НАН України) та витримують 30 хв. Зразки відігрівають до 25°C . За вказаної температури додають 1/3 об’єму фізіологічного розчину та механічно диспергують у гомогенізаторі. Отриману масу плаценти витримують при 4°C протягом 20 годин, після чого центрифугують 30 хв при 1075g. Отриманий надосадок фільтрують, розливають в кріопробірки об’ємом 1,8 мл та заморожують у рідкому азоті. Розморожування КЕП здійснюють при 40°C .

У роботах **Прокопюк О.С. (2014 р.)** [448] запропоновано використання наступних підходів до кріоекстрагування біологічно активних речовин з плаценти:

- заморожування до -80°C з подальшим відігрівом до температури $+25^{\circ}\text{C}$ та диспергування 5 хв при 500 об/хв і центрифугування 10 хв при 4000 об/хв;

- заморожування до -80°C з подальшим відігрівом до температури $+25^{\circ}\text{C}$; заморожування до -196°C з подальшим відігрівом до температури $+25^{\circ}\text{C}$ та диспергування 5 хв при 500 об/хв і центрифугування 10 хв при 4000 об/хв.

Автором методики [448] також запропоновано використання повторюваних циклів заморожування до -196°C від 1 до 3 разів.

Розанова С. Л. та співавт. [30] запропонували для отримання екстракту плаценти застосування ультразвуку. Дослідниками підібрано оптимальний режим обробки гомогенату плаценти (4 хв при частоті 22 кГц), який забезпечував найбільш ефективно вивільнення антиоксидантних молекул та не призводив до їх денатурації. Щоб уникнути нагріву гомогенату, дію ультразвуком здійснювали двічі по 2 хв з перервою 1 хв. Далі центрифугували при 1500g протягом 25 хв. Надосадову рідину надбирали та пропускали через мембранний фільтр 0,45 мкм («*Millipore Corp. Carrigtwohill*», Ірландія). Фільтрат, який є водно-сольовим екстрактом плаценти, розливали у пробірки. Автори методики довели, що використання ультразвуку дозволяє значно прискорити процес екстракції, збільшити вихід речовини, яка екстрагується та знизити собівартість препаратів плаценти [30].

У роботах **Реніна М.В. та співавт. (2023 р.)** [449], присвячених визначенню кількісного та якісного складу, біологічної активності кріоекстрактів плаценти залежно від умов їх одержання, запропоновано використання наступних режимів кріообробки:

- охолодження до -20°C зі швидкістю 1–2 град/хв з подальшим відігрівом на водяній бані за температури $+37^{\circ}\text{C}$;
- охолодження до -20°C зі швидкістю 1–2 град/хв; відтавання; заморожування до -196°C зі швидкістю 200 град/хв з наступним відігрівом на водяній бані за температури $+37^{\circ}\text{C}$;
- охолодження до -20°C зі швидкістю 1–2 град/хв; дворазове заморожування до -196°C зі швидкістю 200 град/хв; відігрів на

водяній бані за температури $+37^{\circ}\text{C}$ після кожного етапу охолодження.

Крім вказаних методик одержання КЕП в ІПКіК НАН України вивчалися низка інших підходів, зокрема:

- КЕП з замороженої в морозильній камері при -20°C плаценти, що зберігалась протягом місяця;
- КЕП з плаценти, що була занурена у рідкий азот і зберігалась протягом 1 доби при -196°C .

Заслуговує особливої уваги робота *академіка НАН України, проф. Гольцева А.М. та співавт. (2022 р.)* [450] під назвою «Корекція цитокінового профілю при аутоімунних захворюваннях кріоконсервованими продуктами ембріофетоплацентарного комплексу», в якій висвітлюються перспективи застосування похідних кордової крові людини (зокрема, лейкоконцентрату кордової крові людини) та КЕП. Показано ефективність застосування безклітинного препарату «Кріоцел-кріоекстракт плаценти» (Державне підприємство «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України») для нормалізації рівня протизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10) у пацієнтів з хронічними запальними захворюваннями органів малого таза [24, 25].

1.7.2 Кріоекстракт селезінки

Відомо, що препаратами біологічної терапії (зокрема *клітини та екстракти тканин людини та тварини*) виступають матеріали **аутологічного** (трансплантація власних тканин), **алогенного** (трансплантація «людина – людина») та **ксеногенного** (трансплантація «тварина – людина») походження [451].

Вважається, що органопрепарати володіють топічністю впливу саме на функції відповідного органа чи тканини – **ефект гомологічності**, проте варто зазначити, що пептидам, які екстрагуються з тканин органів, не притаманна видоспецифічність [452, 453].

Серед тканин ксеногенного походження у якості потенційного джерела імуномоделюючих похідних особливу увагу дослідників привертає селезінка, що зумовлено зосередженістю у ній 25% Т-клітин та 65% В-клітин від загального пулу лімфоцитів в організмі [28, 454].

У відділі експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України зосереджено великий обсяг напрацювань з кріогенної технології одержання КЕС (синонімічні назви – екстракт кріоконсервованих фрагментів селезінки, кріоекстракт ксеноселезінки), його зберігання в умовах низьких температур та результатів доклінічних та клінічних досліджень його біологічних властивостей, які лягли в основу дисертаційних досліджень *д. біол. н. Гальченко С.Є.* (2007 р.) [453], *к. мед. н. Бизова В.В.* (2002 р.) [454], *к. мед. н. Олефіренко О.О.* (2008 р.) [455], *к. біол. н. Беспалової І.Г.* (2016 р.) [456] та ін.

Бизов В.В. у клінічних дослідженнях встановив, що ендобронхіальне введення екстракту кріоконсервованих фрагментів селезінки хворим із гнійними абсцесами легенів призводить до вірогідного поліпшення клінічного перебігу захворювання, зменшення кількості випадків переходу процесу у хронічну форму та потреби у великих оперативних втручаннях, а також скорочення середньої тривалості перебування хворих на ліжку на 7,2 дні. Ендобронхіальне введення зазначеного екстракту селезінки у хворих з абсцесами легенів забезпечує відновлення показників неспецифічного та специфічного імунітету, в першу чергу місцевих механізмів бронхолегеневого захисту шляхом активації тканинних (альвеолярних) макрофагів, сегментоядерних нейтрофілів і вільних нейтрофілів бронхоальвеолярного секрету, що спричиняє відновлення функціональної активності фагоцитуючих клітин, збільшення секреції лізоциму, а також підвищення рівня секреторного IgA та α -інтерферонів [457, 458].

Гальченко С.Є. та співавт. [459] показали, що використання суміші екстрактів печінки, селезінки та підшлункової залози свиней протягом 10 діб

сприяє гальмуванню росту карциноми Герена в початковий період на 24,7%, якщо введення починали відразу після трансплантації пухлини.

Сандомирський Б.П. та співавт. [460] розробили на основі екстракту селезінки свиней засіб для лікування ран. При введенні екстракту селезінки відмічався вищий темп загоєння опікової рани, що виражалося в прискоренні зміни фаз регенеративного процесу: скорочувалися терміни періоду клітинної інфільтрації і прискорювалося утворення грануляції. Спостерігалась рання ерадикація ран від мікроорганізмів [453].

При токсичному гепатиті екстракт селезінки сприяв достовірному, в порівнянні з контролем, зменшенню активності аланін-амінотрансферази на 5 добу [453].

Хворостов С.Д. та співавт. [461] продемонстрували ефективність тканинних екстрактів, зокрема селезінки, на відновні процеси в печінці при експериментальному цирозі. Аналогічні дані продемонстровано **Олефіренко О.О. та співав.** [462].

Технологія одержання КЕС. Гальченко С.Є. та співавт. [463] розроблено методику одержання водно-сольового екстракту із кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней – КЕС.

Згідно із запропонованою методикою селезінку поросят подрібнюють на фрагменти масою 2–5 мг та тричі відмивають фізіологічним розчином (рН=7,4) у співвідношенні 1:10. До фрагментів селезінки додають в співвідношенні 1:1 розчин кріопротектора (гліцерин, ПЕО-400 або ПЕО-1500) у концентрації 10 або 20%, далі їх заморожують зі швидкістю охолодження 1 °С /хв до –70°С з наступним зануренням у рідкий азот (–196°С).

Матеріал відігрівають на водяній бані з температурою 37–40°С та відмивають від кріопротектора. Від гліцерину та ПЕО-400 фрагменти відмивають сахарозними середовищами з такою ж молярною концентрацією, як і кінцева концентрація кріопротектора, а від ПЕО-1500 – фізіологічним розчином.

Для одержання екстрактів фрагменти селезінки інкубують в фізіологічному розчині 30, 60 або 90 хв за температури 22–24°C. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівають на водяній бані 15 хв та очищують, пропускаючи через фільтрувальний папір [464, 465, 466].

Бизов В.В. та співавт. [454] встановили, що концентрація низькомолекулярних біологічно активних речовин (БАР) в екстракті селезінки, виготовленому за наведеним вище способом, перевищує концентрацію низькомолекулярних БАР в екстракті, одержаному з нативних фрагментів селезінки.

Виділення поліпептидних екстрактів з різних органів тварин стало важливим етапом у вивченні біологічної активності пептидів [467, 468]. Пептиди виконують різноманітні біологічні функції: регулюють функції ендокринної, нервової та імунної систем. Діяльність пептидів характеризується їх широким спектром біологічних властивостей, включаючи регуляцію диференціації клітин, апоптозу та проліферації.

Короткі пептиди, що складаються з 2–7 амінокислотних залишків, можуть проникати в ядра і ядерця клітин і взаємодіяти з нуклеосомами, білками-гістонами, а також з одно- і дволанцюговою ДНК. Взаємодії ДНК-пептид, включаючи розпізнавання послідовностей у промоторах генів, важливі для реакцій синтезу, спрямованих на шаблон, реплікації, транскрипції та репарації. Пептиди можуть регулювати статус метилювання ДНК, яке є епігенетичним механізмом для активації або репресії генів як у нормальному стані, так і у випадках патології та старіння. У цьому контексті можна припустити, що короткі пептиди еволюційно були одними з перших сигнальних молекул, які регулювали реакції шаблонно-спрямованого синтезу [467].

Таким чином, вивчення механізмів фізіологічної активності пептидів становить великий інтерес для дослідників, які працюють у сфері молекулярної біології, фармакології та медицини [467, 468].

1.7.3 Кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин

Серед різних популяцій стовбурових клітин МСК є найбільш перспективним ресурсом для клітинної терапії, зокрема запальних та дегенеративних захворювань, через їх потенціал диференціації за кількома лініями, імуномодуючі властивості та проангіогенні характеристики [469]. Варто зазначити, що термін «мезенхімальні стовбурові клітини» у представленому огляді застосовується синонімічно до номенклатури «мезенхімальні стромальні клітини», хоча **Caplan A.I** (2017 р.) закликає змінити назву МСК на «medicinal signaling cells», оскільки функція МСК *in vivo* є секреторною та переважно функціональною в місцях пошкодження, ураження та/або запалення, тобто *in situ* [15].

Класично МСК визначають як прикріплені, негемопоетичні клітини, які експресують поверхневі маркери CD90, CD105 і CD73 та не мають експресії CD14, CD34 і CD45. Здатність відносно швидко генерувати клінічно значущу кількість чітко визначених МСК з невеликих клінічних зразків, можливе введення без необхідності підбору гаплотипів клітин призвели до широкого зацікавлення щодо їх клінічного використання [470]. Станом на 30.09.2023 р. за даними міжнародного реєстру ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov/>) у світі зафіксовано 263 клінічні дослідження, об'єктом вивчення у яких виступають властивості МСК та їх похідних. Активно накопичуються дані про застосування МСК при різних захворюваннях. Деякі дослідження повідомляли про позитивні ефекти терапії стовбуровими клітинами при дегенеративних захворюваннях та показали, що стовбурові клітини викликають відновлення тканин завдяки своїй здатності виділяти трофічні фактори, а не тільки через їхню здатність диференціюватися в необхідні клітини [471].

Тим не менш, існує кілька перешкод для безпечної алогенної трансплантації МСК. По-перше, алогенні МСК експресують молекули МНС І класу (*major histocompatibility complex* – головний комплекс гістосумісності) та не є повністю непоміченими для імунної системи реципієнта. Таким чином, після трансплантації МСК можуть викликати алогенні імунні відповіді та

спровокувати загострення поточного захворювання [472]. Крім того, МСК сприятливі для інфекцій, викликаних цитомегаловірусом та вірусом простого герпесу, і, відповідно, алотрансплантації МСК несуть ризик передачі вірусу реципієнтам [469].

Різнноманітні дослідження секретованих факторів, отриманих зі стовбурових клітин, показали, що зазначені фактори від МСК самі по собі, без самої стовбурової клітини, можуть спричинити відновлення тканин у різних станах, які передбачають пошкодження тканин/органів [473]. За даними *Maquire G. та співавт.* до 80% регенеративного потенціалу МСК, спочатку віднесеного до трансплантованих клітин, належить паракринним секретованим клітинним факторам [474]. Вищенаведені відомості слугували підґрунтям до розробки нового підходу до біологічної терапії на основі МСК, яка б не містила самі клітини.

До **безклітинних біологічних засобів**, отриманих з клітин належать екстракти клітин отримані шляхом руйнування власне клітин та продукти, які утворюють живі клітини, вивільняючи їх у позаклітинне середовище. На сьогодні найпоширенішими **методиками отримання екстракту клітин** є: (1) метод ультразвукової обробки, (2) хімічний лізис у поєднанні з методом ультразвукової обробки (3) осмос у поєднанні з методом ультразвукової обробки, (4) циклічне заморожування та розморожування (температурна обробка) та (5) осмос у поєднанні з методом циклів заморожування/відтавання [475]. Так, для отримання **кріоекстракту клітин** культивовані чи нативні клітини ресуспендують у 0,9 % фізіологічному розчині до концентрації 10^7 клітин/100 мкл та проводять 3 цикли заморожування ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) та відтавання ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$) для лізису клітин. Після центрифугування при 17000 g протягом 30 хв при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ супернатант (визначений як клітинний екстракт) зберігають при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до використання [475, 476, 477].

Набір паракринних факторів (розчинні білки, нуклеїнові кислоти (ДНК, РНК та мікроРНК), ліпіди та позаклітинні (екстрацелюлярні) везикули), що виділяється живими клітинами у позаклітинний простір називають

секретомом [478, 479]. Результати, отримані у низці досліджень, продемонстрували, що секретом, отриманий з МСК, має терапевтичні ефекти, подібні до тих, що спостерігаються після трансплантації МСК [469, 473].

Складові секретому МСК можна розділити на: (1) фактори росту, (2) прозапальні та протизапальні цитокіни та (3) інші цитокіни [473]. Серед **факторів росту** у КС-МСК ідентифіковано фактор росту ендотелію судин (*vascular endothelial-derived growth factor (GF) – VEGF*), тромбоцитів (*platelet-derived – PGF*), епідермальний (*epidermal – EGF*), інсуліноподібний I та II типів (*insulin like – IGF 1/2*), гепатоцитів (*hepatocyte – HGF*), фібробластів 2 (*fibroblast – FGF 2*), кератиноцитів/фактор росту фібробластів 7 (*keratinocyte – KGF /fibroblast – FGF 7*), тромбоцитарних ендотеліальних клітин (*platelet-derived endothelial cell – PD-ECGF*), гепаринзв'язуючий епідермальний (*heparin-binding epidermal – HB-EGF*), плацентарний (*placenta – PGF*), нейронний (*neural – NGF*), нейротрофічний фактор мозку (*brain-derived neurotrophic factor – BDNF*) та ін.

Фактори регуляції запалення, виявлені у КС-МСК, доцільно поділити на прозапальні – трансформуючий фактор росту (*transforming – TGF- β 1*) та ІЛ: ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-27, ІЛ-17Е, ІЛ-13, ІЛ-12p70, а також антагоніст рецептора ІЛ-1 (ІЛ-1ra). До протизапальних цитокінів варто віднести ІЛ-8/CXCL-8 (*C-X-C motif chemokine ligand 8*), ІЛ-9 та ІЛ-1b. [473, 478]. Крім того у КС-МСК ідентифіковано наявність й інших цитокінів – лептин, ангіогенін, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (*granulocyte colony-stimulating factor*), гранулоцитарно-макрофагальний фактор (*granulocyte macrophage-stimulating factor*), макрофагальний фактор (*macrophage-stimulating factor*), фракталкін, хемотаксичний білок моноцитів, серпін Е-1, ендостатин/колаген XVIII, тромбоспондини 1/2, тканинний інгібітор металопротеїнази-1 та ін. Слід зазначити, що КС-МСК можна отримати з різних типів клітин за різних умов культивування, що може регулювати рівень та функцію секреторних факторів. Оцінка КС-МСК з різних джерел продемонструвала відмінності у їх складі [478, 479].

Термін «**кондиціоноване середовище**» відноситься до рідкої фази середовища клітинної культури, збагаченої секретом культивованих клітин [480]. Культуральне середовище, збагачене секретом від МСК під час їх росту, отримало назву **кондиціоноване середовище МСК (КС-МСК)** [481].

Кондиціоноване середовище з МСК (КС-МСК) (*mesenchymal stromal cell-conditioned media*) на сьогодні розглядається у якості самостійного терапевтичного агента, який містить біологічно активні речовини, які виділяли МСК у процесі свого росту, але **не включає екзосоми та нуклеїнові кислоти**. Хоча використання секретом МСК може бути більш комплексним, оскільки включає більш широкий спектр біологічно активних речовин, проте кондиціоновані середовища можуть бути більш стандартизованими та простими для використання [482].

За визначенням *Ivanisova D. та співавт.* [482]. КС-МСК – це тип клітинного культурального середовища, яке було кондиціоноване або модифіковане паракринною дією МСК. Це середовище містить різні фактори росту, цитокіни та інші молекули, що виділяються МСК, і може використовуватися для різних цілей, таких як стимулювання росту та диференціації клітин, вивчення сигнальних шляхів клітини та оцінка терапевтичного потенціалу МСК [483]. Найпоширенішими джерелами стовбурових клітин, які використовуються для «виробництва» кондиціонованих середовищ, є МСК кісткового мозку, жирової тканини, пульпи зуба та ін. [484].

Технологію отримання КС-МСК детально описано у роботах [482, 486]. Першим етапом виробництва кондиціонованого середовища з МСК є власне ізоляція *in vitro* МСК у статичних або динамічних умовах для отримання відповідної кількості клітин перед початком процесу кондиціонування. Після точної характеристики МСК культуральні середовища замінюють безсироватковими базальними середовищами. На цьому етапі МСК починають виділяти різні біоактивні молекули та позаклітинні везикули. Після 24–48 год кондиціоноване середовище збирають та фільтрують, щоб видалити

будь-які залишки клітин. Кондиціоноване середовище можна концентрувати за допомогою центрифугування або ультрафільтрації. Після виконання контролю якості є можливим пряме використання отриманого кондиціонованого середовища або його зберігання шляхом **кріоконсервування** [485, 487, 488].

Найпоширеніші джерела стромальних клітин наведені на рис. 1.7.1: МСК кісткового мозку (2), МСК синовіальної оболонки (1), МСК жирової тканини (3), МСК плаценти (4), амніону (5), пуповини (6) пуповинної крові (7), Вартонового студня (*Wharton's jelly*, 8), стромальні клітини пульпи зуба (9), клітини строми молочних зубів людини (10), а також індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (11), див. рис. 1.7.1).

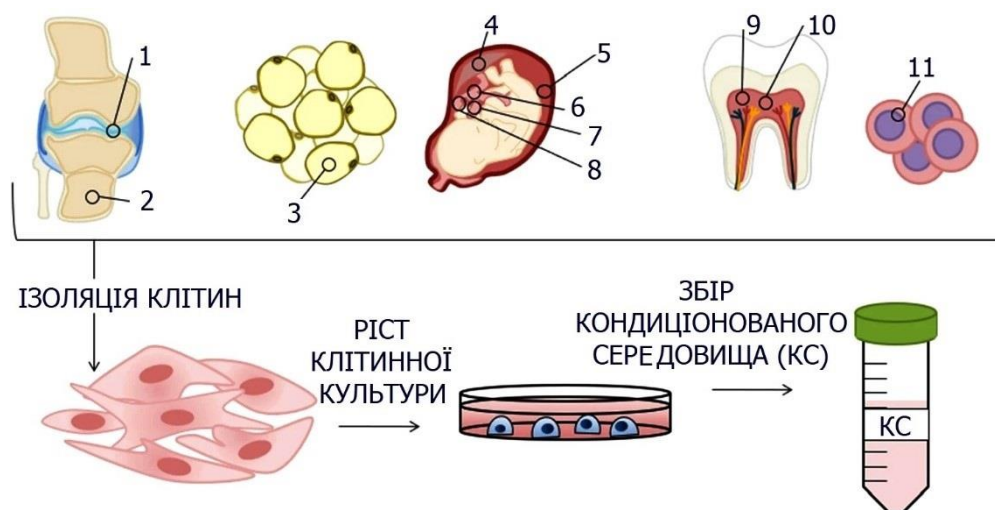


Рис. 1.7.1 Найпоширеніші джерела клітин та отримання КС
(адаптовано за [489])

Тривалий час вважалось постулатом, що міжклітинна комунікація відбувається виключно через прямий контакт між клітинами або через вивільнення розчинних молекул, які передають сигнал шляхом зв'язування з відповідним рецептором на клітині-мішені та/або через поглинання цією клітиною [490, 491]. Останнім часом увага дослідників все більше зосереджується на механізмі міжклітинного зв'язку, який включає міжклітинне перенесення **екстрацелюлярних везикул (ЕВ)** [492]. ЕВ – це

оточені мембраною структури, які вивільняються більшістю типів клітин та характеризуються певним набором білків, ліпідів та нуклеїнових кислот [493].

На сьогодні добре відомо, що клітина здатна вивільняти три підтипи ЕВ, а саме екзосоми, ектосоми (мікровезикули) та апоптотичні тільця, які виділяються клітиною у позаклітинний простір (рис. 1.7.2). Екзосоми вивільняються шляхом екзоцитозу, тоді як ектосоми виділяються шляхом брунькування плазматичної мембрани. Апоптотичні тільця вивільняються відмираючими клітинами на пізніх стадіях апоптозу та містять ядерний матеріал, клітинні органели і вміст мембрани [491]. Апоптотичні тільця, як правило, викликають протизапальну або толерогенну відповідь, коли їх поглинають сусідні клітини [494].

Термін «екзосома» спочатку використовувався для везикул розміром від 40 до 1000 нм, які вивільняються різними культивованими клітинами [496], проте пізніше цей термін було прийнято для везикул розміром 30–150 нм, що вивільняються під час диференціювання ретикулоцитів як наслідок злиття мультивезикулярної ендосоми з плазматичною мембраною [497]. ЕВ складаються з різних молекул, включаючи білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти (табл. 1.7.3). Секретовані білки беруть участь у міжклітинній комунікації та відіграють роль у клітинній сигналізації, диференціації, клітинній адгезії, ангиогенезі та апоптозі.

Зміна парадигми щодо способу дії МСК сприяла становленню уявлення про клітинний секретом, як у вигляді цілісного поняття, так і у вигляді окремих його фракцій (розчинних та везикулярних субкомпонентів), як нового класу біологічних терапевтичних засобів. Дійсно, останні кілька років відмічається входження секретома МСК до низки клінічних випробувань, переважно в галузі регенеративної медицини, що повторює шлях клінічного застосування донорських клітин [498].

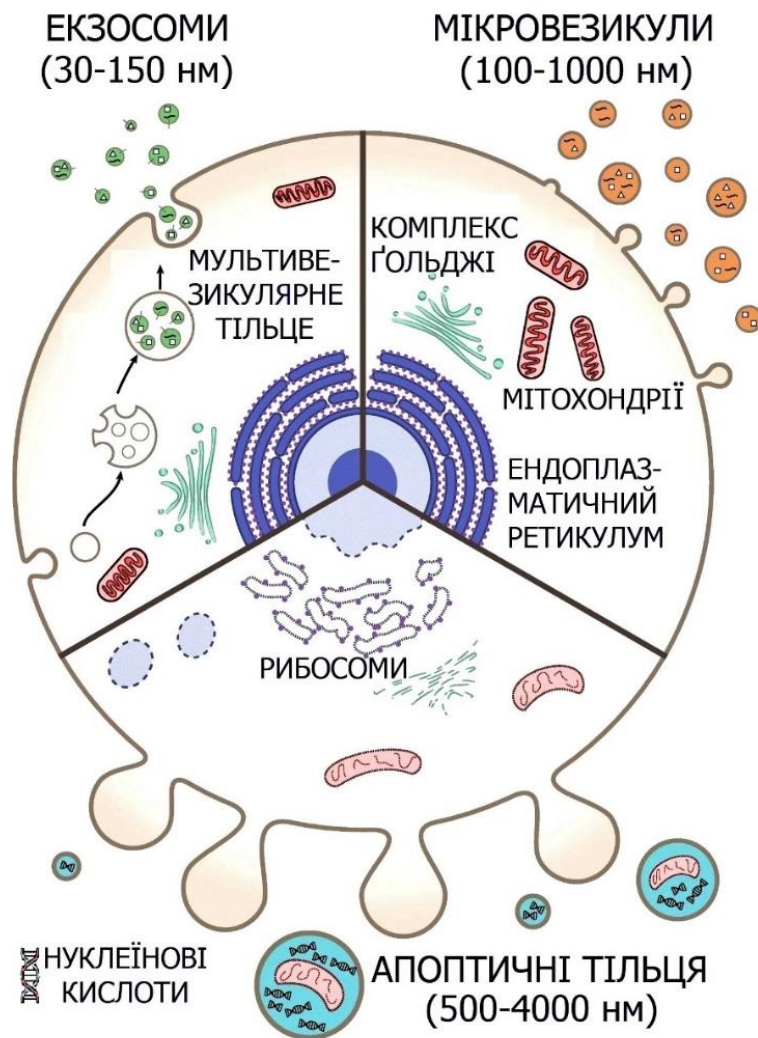


Рис. 1.7.2 Біогенез різних форм екстрацелюлярних везикул з еукаріотичної клітини (адаптовано за [495])

КС-МСК продемонстрував порівнянну з ефектом власне МСК терапевтичну дію на різні захворювання [478], включаючи інфаркт міокарда [499], інсульт [500], травми спинного мозку [501], травми головного мозку [502], гострі та хронічні рани [503], ураження печінки [504], ураження нирок [505], ураження пародонта [506], дефекти кісток [507], пошкодження опорно-рухового апарату [508], захворювання шкіри [509], чоловіче безпліддя [510], запальний артрит [511] і розсіяний склероз [512]. Станом на 2023 р. за даними міжнародного реєстру ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov/>) у світі зареєстровано 14 клінічних досліджень, присвячених КС.

Характеристика складу екстрацелюлярних везикул [493]

Компоненти	Екстрацелюлярні (позаклітинні) везикули (ЕВ)		
	Екзосоми	Ектосоми (мікроевезикули)	Апоптичні тільця
Біомаркери	CD9, CD63, CD81, Alix, Tsg101	Немає загального маркера	Анексин V, фосфатидилсерин, тромбоспондин, С3b
Розмір (нм)	30–150	100–1000	500–4000
Походження	Внутрішньопорожнинні мікроевезикули, які утворюються ендосомальним шляхом, проходять через плазматичну мембрану шляхом екзоцитозу	Випинання плазматичної мембрани клітин (зокрема нейтрофіли людини, пухлинні клітини, еритроцити та поліморфноядерні лейкоцити)	Плазматична мембрана апоптичних клітин, що містить клітинні фрагменти
Білки	CD63, CD81, CD9, анексини, білки теплового шоку, Alix, Tsg101, клатрин, кавеоліни, інтегрини, TfRs	Інтегрини, флотиліни, селектини, CD40, металопротеїнази	Гістони
Ліпіди	Лізобісфосфатидна кислота, холестерин, церамід, сфінгомієлін і низька концентрація фосфатидилсерину	Висока кількість холестерину, сфінгомієліну, цераміду, висока концентрація фосфатидилсерину	Висока концентрація фосфатидилсерину
Нуклеїнові кислоти	мРНК і мікроРНК	мРНК і мікроРНК	мРНК, мікроРНК, фрагменти ДНК

Перспективний потенціал КС-МСК, як інноваційного безклітинного терапевтичного засобу, підкріплено низкою переваг, порівняно з використанням стовбурових клітин, зокрема КС-МСК має більший терміном придатності та не вимагає складновідтворюваних умов зберігання (табл. 1.7.4) [478, 490].

На сьогодні існують різні методи отримання КС, які можуть впливати на типи та рівні факторів росту, зібрані цими методами. Характеристики КС-МСК різнитимуться в залежності від власне джерела вихідних МСК (кістковий мозок, жирова тканина, плацента та ін.), газових умов культивування – нормоксія (O_2 20,0–21,0 %) або гіпоксія (0,5–1,0–1,5–2,0 % O_2) [514], тривалості культивування (від 16–24–48–72 годин до 3–5 днів [516, 517] та ін.).

У разі використання базового середовища коротка тривалість культивування може залишити певні сироваткові фактори росту, які не споживаються клітинами та можуть підвищити рівень фактора росту або, навпаки, пригнічувати секрецію фактора росту клітинами. Можливість присутності залишкового фактора росту в середовищі можна побачити в дослідженні, яке показало, що середовище без клітин містило рівень TGF- β 1 $2,49 \pm 2,39$ пг/мл [518].

Таблиця 1.7.4

Переваги та недоліки КС порівняно з трансплантацією клітин

[489, 490, 513, 514, 515]

Переваги	Недоліки
1. зниження ризику реакції «трансплантат проти господаря»; 2. швидке та дешеве виробництво: обсяг КС з однієї культури; 3. зручне зберігання та транспортування: не потребує застосування кріопротекторів; 4. процедура введення не вимагає стерильних умов: підвищення зручності використання; 5. менш інвазивне введення: не вимагає хірургічного втручання; 6. подовжений термін зберігання за рахунок відсутності клітин; 7. готові біопрепарати як лікарські засоби для регенеративної медицини; 8. менший ризик пухлиноутворення завдяки безклітинному складу.	1. недостатня вичерпність відомостей щодо складу та механізму дії факторів; 2. необхідність оптимізації виробництва з метою стандартизації складу КС; 3. висока мінливість залежно від культури клітин, типу, пасажу, стану культури та методів обробки КС; 4. недостатність клінічних досліджень; 5. алергічні реакції на композиції культурального середовища.

Чи не найважливіше значення має власне культуральне середовище. Культуральне середовище в культурі *in vitro* являє собою мікрооточення в умовах *in vivo* та може визначати частку клітин і, таким чином, клітинну секрецію. Деякі дослідження використовували фетальну сироватку великої рогатої худоби, тоді як інші дослідження використовували середовище без сироватки. Таким чином, той самий тип клітин може секретувати різний рівень факторів росту, коли їх культивували в різному середовищі, наприклад, середовище Ігла модифіковане Дульбекко (*Dulbecco's Modified Eagle Medium – DMEM*), та його модифікації (*Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 – DMEM/F12*), α модифіковане поживне середовище Ігла (α *Minimum Essential Medium Eagle – α MEM*), середовище 199 (*Medium 199*), базальне середовище ендотелію (*Endothelial Basal Medium – EBM2*), середовище для росту ендотеліальних клітин (*Endothelial Cell Growth Medium-2 – EGM-2*) та ін. [473].

Найчастіше КС-МСК отримують у моношаровій культурі, але в деяких дослідженнях використовувалися сфероїдні культури. Культури сфероїдів потребують спеціального поводження та обладнання, але дають більше клітин порівняно зі звичайними моношаровими культурами, а отже, більше секретованих факторів [518, 519]. Крім того, клітини, розташовані в центрі сфероїда, можуть перебувати у відносному гіпоксичному стані порівняно з клітинами на поверхні, таким чином додатково збільшуючи вихід певного фактора росту [473].

На сьогодні дослідниками запропоновано цілу низку протоколів отримання КС-МСК, які варіюють за використаним культуральним середовищем та умовами культивування. Не менші важливим є подальша стандартизація отриманого КС-МСК для подальших доклінічних та клінічних досліджень. Прикладом стандартизації КС-МСК є кількісне визначення білків (наприклад, галектин-1 (умовно 6 пг/мл) та ін.) шляхом імуноферментного аналізу [520]. Галектини-1/9 являють собою сімейство білків, які поділяють характерні амінокислотні послідовності та спорідненість до β -галактозидних

цукрів [470]. *Gieseke F. та співавт.* [521] показали, що галектин-1 відіграє важливу роль в імуномодуючій здатності МСК.

Зважаючи на широкий терапевтичний потенціал КС-МСК *Giannasi C. та співавт.* рекомендують не зосереджуватися на окремих компонентах, а скоріше націлитися на отримання загального уявлення про велику складність зазначеного перспективного безклітинного терапевтичного засобу, ефективність якого залежить саме від наявності безлічі біологічно активних факторів різної природи [521].

Усе вище наведене зумовлює мету та задачі дослідження.

Висновки до розділу 1

1. РА є складним аутоімунним захворюванням, яке серйозно впливає якість життя пацієнтів. Генетичні передумови відіграють значущу роль у розвитку РА, зокрема алель HLA-DR4 та специфічні посттрансляційні модифікації білків, такі як цитрулінування. АСРА та РФ стають важливими діагностичними маркерами РА та можуть бути виявлені на ранніх стадіях, ще до появи клінічних симптомів. Розуміння генетичних та імунологічних аспектів розвитку вказало на захворювання, впровадження DMARD та перспективи використання МСК і їх похідних дозволяє розробити нові стратегії ефективного лікування для поліпшення якості життя пацієнтів і здійснення більш ефективного контролю над цим захворюванням.
2. РС є найпоширенішим хронічним запальним демієлінізуючим захворюванням ЦНС, яке уражує понад 2,9 млн людей у всьому світі та виступає основною причиною інвалідності людей віком 20–40 років. РС супроводжується повністю або частково оборотними епізодами неврологічних розладів, які зазвичай тривають від днів до тижнів. Близько 80 % усіх випадків РС становить рецидивуючо-ремітуюча

форма захворювання. Досягнення в фундаментальній імунології, біології мієліну та нейрофізіології відкрили перспективу багатостороннього розуміння РС. З боку Т-клітин, як допоміжні (CD4+), так і цитотоксичні (CD8+) Т-клітини були описані в ураженнях РС. Периферично активовані підгрупи Т-клітин (CD4+ Th1 та Th17, CD8+) мігрують через ГЕБ та активують В-клітини та макрофаги, що зумовлює нейрозапальну реакцію та викликає демієлінізацію та нейродегенерацію у ЦНС. Клітини-попередники олігодендроцитів, які широко розповсюджені по всій ЦНС, опосередковують мієлінізацію та ремієлінізацію. Однією з бажаних особливостей нових методів лікування РС виступає відновлення антигенспецифічної толерантності.

3. Схильність до АІЗ-ЩЗ визначається поєднанням імунного механізму, генетики, факторів середовища та конституційних факторів. Усі форми тиреоїдного аутоіmunітету пов'язані з лімфоцитарним інфільтратом у ЩЗ, а основними тиреоїдними антигенами виступають рецептор ТТГ, тиреоглобулін, тиреопероксидаза, пендрин та симпортер Na⁺/I⁻. Під час АІЗ-ЩЗ інфільтрація ЩЗ Th1/Th2, Th17 та T-reg супроводжується утворенням низки цитокінів та хемокинів, які відіграють важливу роль у патогенезі як хвороби Грейвса так і при аутоіmunному тиреоїдиті Хашимото.
4. Хронічна імунна стимуляція або аутоіmunітет при вірусному міокардиті є результатом неповного подолання вірусної інфекції або імуноопосередкованого хронічного ураження тканин. Активна аутоіmunна відповідь при міокардиті людини як на клітинному, так і на гуморальному рівнях виступає імунологічним підґрунтям розвитку вказаної патології. CD4+ Т-клітини визначені як основні рушійні сили серцево-специфічного аутоіmunітету при міокардиті. Дисрегульовані популяції CD4+ Т-клітин та пов'язані з ними цитокіни є критичними для розвитку та прогресування міокардиту і можуть слугувати терапевтичними мішенями в розробці нових підходів до лікування.

5. МН є підтипом гломерулонефриту, що характеризується пошкодженням подоцитів, опосередкованим антитілами проти антигенів подоцитів, що депонуються під гломерулярними вісцеральними епітеліальними клітинами та активацією комплементу. Патологічними проявами МН є дифузне потовщення базальної мембрани клубочка та масивне відкладення електронно-щільного матеріалу під епітеліальними клітинами та гранулярне відкладення IgG та компоненту-3 системи комплементу уздовж стінки капіляра. PLA2R та THSD7A визначено ключовими антигенами подоцитів при МН на сьогоднішній день.
6. АІГ є складним захворюванням з багатогранним імунопатогенезом, який залучає численні імунні механізми та клітини. Імунна регуляція печінки здійснюється за допомогою унікальних популяцій клітин, таких як T-reg, клітини Купфера та NK-клітини, які взаємодіють для підтримання імунної толерантності та регуляції запалення. Дефіцит або дисфункція T-reg, а також активація Th17-клітин, сприяють розвитку запальних процесів та аутоімунного пошкодження печінки. Ефективне лікування АІГ є викликом, оскільки у значної частини пацієнтів спостерігається стійкість до традиційної терапії. Нові підходи, такі як терапія на основі T-reg, показують обнадійливі результати в клінічних дослідженнях. Однак, для стабільного покращення лікування необхідні подальші дослідження, які дозволять оптимізувати ці методи та забезпечити їх безпечне та ефективне використання.
7. Ендогенні імуномодулятори – це олігопептиди, що активують імунну систему за рахунок посилення проліферації та стимуляції функції імунних клітин. Основною перешкодою для більш широкого використання біологічних препаратів у клінічній практиці є нетривалий строк їх зберігання у функціонально повноцінному стані. Використання низьких температур у процесі переробки біологічної сировини сприяє повнішому руйнуванню клітин та їх мембран і зрештою виходу у розчин біологічно активних речовин. Екстракт плаценти являє собою комплекс

низькомолекулярних пептидів, екстрагованих з плаценти, які включають різноманітні біологічно активні речовини, такі як Ig, біоактивні пептиди та гормони, а також амінокислоти та мінерали. Серед тканин ксеногенного походження у якості потенційного джерела імуномодельюючих похідних особливу увагу дослідників привертає селезінка, що зумовлено зосередженістю у ній 25% Т-клітин та 65% В-клітин від загального пулу лімфоцитів в організмі.

8. У сукупності результати великої кількості досліджень показують, що МСК та безклітинні похідні, такі як екзосоми та кондиціоновані середовища мають великий потенціал як терапевтичні агенти для лікування хворих на аутоімунні захворювання. Екзосоми та кондиціоновані середовища з МСК мають потенціал замінити клітинну терапію або слугувати співставною за ефективністю клінічною стратегією біологічної терапії. Попереднє кондиціонування МСК дозволить модулювати терапевтичні ефекти екзосом та стане підґрунтям для розробки рекомендацій та стандартів щодо питань ефективності та безпеки безклітинної терапії. Секретом мезенхімальних стовбурових/стромальних клітин являє собою розчинену у рідкій фазі суміш біологічно активних везикул та окремих ліпідів, білків та нуклеїнових кислот. Застосування КС-МС має переваги над власне МСК за рахунок відсутності імуногенності, що дозволяє мінімізувати міждонорську варіабельність та уникнути необхідності виконання додаткових процедур у пацієнтів для збору клітин. На сьогодні у світі зареєстровано 14 клінічних досліджень щодо ефективності КС.

Основні положення цього розділу викладено у 16 публікаціях автора [31, 32, 33, 34, 35, 50, 51, 59, 60, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України¹, Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»² та відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України³ (в. о. завідувача відділу, к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.). Робота виконана в рамках НДР кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування» (номер державної реєстрації 0123U105022).

2.1 Об'єкт та предмети дослідження

Об'єкт дослідження – розробка нових шляхів оптимізації терапії аутоімунних захворювань.

Предмет дослідження – біологічні властивості безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів: кондиціонованого середовища МСК, кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки.

¹ за місцем навчання у докторантурі впродовж 2023–2025 рр.

² за основним місцем роботи впродовж 2018–2025 рр.

³ за місцем роботи за сумісництвом впродовж 2022–2024 рр.

2.1.1 Характеристика лабораторних тварин та біоетичні аспекти дослідження

Дослідження проведено на 252 рандомбредних⁴ статевозрілих нелінійних лабораторних щурах масою 200–220 г (табл. 2.1), яких утримували в умовах віварію Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України.

Таблиця 2.1

Розподіл експериментальних тварин та тривалість досліджень (N = 252)

Експериментальна модель	Кількість груп (по n=7)	Загальна кількість щурів	Тривалість експерименту, діб
1. Модель ревматоїдного артрити	6	42	28
2. Експериментальний алергічний енцефаломієліт	6	42	22
3. Модель аутоімунного тиреоїдиту	6	42	28
4. Експериментальний аутоімунний міокардит	6	42	28
5. Експериментальний аутоімунний нефрит	6	42	70
6. Модель аутоімунного гепатиту	6	42	52

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України (витяг з протоколу № 4/3 від 11 грудня 2024 р.).

До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину (СТ-Н МОЗ України 42-6.0:2008 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика») після чого проводилась рандомізація на групи по 7 особин в кожній із подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону з вільним доступом (*ad libitum*) до води та їжі [522, 523, 524].

⁴ з англ. *random-bred* – тварини, що розмножуються без цілеспрямованої селекції.

У всіх серіях дослідження тваринам у групах наносили індивідуальні мітки. Впродовж всього експерименту контролювали масу тіла, оцінювали зовнішній вигляд та загальний стан тварин (поведінкові реакції, рефлексії, зокрема харчовий тощо). Для уникнення впливу на експеримент добового ритму біологічної активності досліди виконували завжди у першій половині дня з 8 до 11 год. У разі загибелі тварин піддавали розтину та проводили макроскопічний аналіз органів черевної порожнини з метою встановлення, що летальний вихід тварини не був зумовлений маніпуляційними помилками, а також для визначення вірогідної причини загибелі. У всіх дослідженнях щурів виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним трихлорметановим (CHCl_3) «рауш-наркозом».

Експериментальні дослідження проведені у повній відповідності до чинних вітчизняних та міжнародних нормативно-правових актів [525, 526]:

- Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р. (зі змінами);
- Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р.;
- Наказу Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» № 944 від 14.12.2009 р.;
- Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (м. Київ, 2001 р.);
- Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, що використовуються з науковою метою» (м. Брюссель, 2010 р.);
- Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.);
- Рекомендацій ARRIVE 2.0 (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) 2020 р. [527] та ін.

2.1.2 Характеристика використаних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів

У якості безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів (БКБЗ) у роботі використано КЕП, КЕС та КС-МСК, зберігання яких відбувалось у низькотемпературному середовищі.

2.1.2.1 Технологія одержання КЕП

Кріоекстракти плаценти людини (КЕП) одержано у відділі експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України (в. о. завідувача відділу – к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.).

Донорами плацент виступали здорові породіллі строком 39–41 тижнів гестації, які народжували на базі КНП «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради (д. мед. н., проф. Лахно І.В.). Всі породіллі підлягали обов'язковому обстеженню на пренатальні інфекції, сифіліс, СНІД, гепатити А, В, С, цитомегаловірусну інфекцію та ін.

Етап 1 (підготовка матеріалу). Плаценту після операції кесаревого розтину відмивали від крові у 0,9 % розчині натрію хлориду (NaCl), відділяли амніотичну оболонку, розділяли на фрагменти масою 5–10 г, промивали 5–6 разів 0,9 % розчином NaCl та занурювали на 15 хв у флакони із трикомпонентним розчином (табл. 2.2), що містив NaCl, антибіотик канаміцин та диметилсульфоксид (ДМСО) [24, 25, 450].

Етап 2 (дія ультранизькими (-80°C , -196°C) температурами). Фрагменти плаценти поміщали у флакон з 0,9 % розчином NaCl у співвідношенні 1:1, додавали кріопротектор ДМСО (5,0 %) та заморожували зі швидкістю охолодження $1^{\circ}\text{C} / \text{хв}$ до -80°C . Через 30 хв зразки розморожували на водяній бані з температурою $37-40^{\circ}\text{C}$ до повного відтавання [448]. Після розморожування фрагменти плацентарної тканини піддавали ще двом послідовним циклам заморожування до -196°C , витримці 30 хв у парах рідкого азоту та розморожували на водяній бані [448].

Таблиця 2.2

Фармацевтична характеристика компонентів розчину для І етапу одержання КЕП

Препарат (міжнародна непатентована назва)	Фармако- логічна група	АТХ- код	Торгова назва (виробник, країна)	Дозвільні документи	Форма випуску	Концентрація	
						мг/мл	%
Натрію хлорид (<i>Sodium chloride</i>)	Розчини електролітів	B05X A03	Натрію хлорид (ТОВ «Юрія- Фарм», Україна)	Посвідчення UA/8331/01/01 від 13.03.2018 р. необмежене	флаконт 400,0 мл	9,0 мг/мл	0,9 %
Канаміцин (<i>Kanamycin</i>)	Аміногліко- зиди	J01GB 04	Канаміцин (ПАТ «Київмедпрепа- рат», Україна)	Посвідчення UA/7637/01/01 від 29.11.2017 р. необмежене	порошок, флаконт 1,0 г	1,25 мг/мл	0,125 %
Диметилсульфоксид (<i>Dimethyl sulfoxide</i>)	Засоби для місцевого застосу- вання	M02A X03	Диметилсульф- оксид (ТОВ «МЕДЛЕВ», Україна)	Посвідчення UA/8331/01/01 від 29.07.2022 р. до 29.07.2027 р.	флаконт 100,0 г	20,0 мг/мл	2,0 %

Етап 3 (водно-сольова екстракція). Для видалення кріопротектора ДМСО розморожені після триразового заморожування (-80°C , -196°C , -196°C) фрагменти плацентарної тканини занурювали у розчин сахарози після чого переносили у флакон із 0,9 % розчином NaCl та збовтували впродовж 1–2 хв, потім зливали надосад та доливали нову порцію фізіологічного розчину. Цю процедуру повторювали 5–6 разів, після чого тканину механічно диспергували у гомогенізаторі та додавали 0,9 % розчин NaCl у співвідношенні 1:2, витримували 24 год при температурі 4°C та центрифугували 15–20 хв при 4000 об/хв. Одержаний надосад фільтрували через міліпорові фільтри (діаметр пор 0,22 мкм), отримуючи водно-сольовий екстракт плаценти – КЕП, який стандартизували за вмістом білка (1,5 мг/мл), визначаючи його спектрофотометрично ($\lambda = 540 \text{ нм}$) [447]. Стандартизований КЕП фасували в ампули по 1,8 мл та зберігали у рідкому азоті при -196°C [24, 25].

Препарат КЕП вводили щурам внутрішньом'язово (в/м) у дозі 2,5 мл/кг, що відповідає 0,5 мл/200 г маси тіла щура (з урахування, що середня маса тіла щура становить 200–240 г [522]) [447]. Перед застосуванням КЕП разову дозу екстемпорально (*ex tempore* – за потребою) розводили у фізіологічному розчині з розрахунку 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl /100 г маси тіла щура [447].

2.1.2.2 Технологія одержання КЕС

КЕС одержано у відділі експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України (в. о. завідувача відділу – к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.).

Етап 1 (підготовка матеріалу). Селезінку свиней розділяли на дрібні фрагменти масою 5–10 г та тричі відмивали 0,9 % розчином NaCl у співвідношенні 1:10.

Етап 2 (дія низькими (-70°C) та ультранизькими (-196°C) температурами). До фрагментів селезінки додавали у співвідношенні 1:1 розчин кріопротектора поліетиленоксиду з молекулярною масою 1500 Да (ПЕО-1500) у концентрації 10 %. Після еквілібрації у розчині кріопротектора

фрагменти селезінки заморожували зі швидкістю охолодження 1°C / хв до – 70°C з наступним зануренням у рідкий азот (– 196°C) [463].

Етап 3 (водно-сольова екстракція). Матеріал відігрівали на водяній бані з температурою 37–40°C та відмивали від кріопротектора фізіологічним розчином. Для одержання водно-сольових екстрактів фрагменти селезінки інкубували у 0,9 % розчині NaCl впродовж 90 хв за температури 22–24°C. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівали на водяній бані з температурою 37–40°C 15 хв та очищали, пропускаючи через фільтрувальний папір [464, 465, 466]. КЕС стандартизували за вмістом білка (0,1 мг/мл), який визначали спектрофотометрично [455].

Препарат КЕС з вмістом білків 0,1 мг/мл вводили щурам в/м у дозі 5,0 мл/кг маси тіла щура, що відповідає 1 мл/200 г [456].

2.1.2.3 Технологія одержання КС-МСК

КС-МСК одержано у ТОВ «Інститут клітинної терапії» (заступник директора кріобанку, завідувач лабораторії стовбурових клітин плаценти – к. біол. н. Шаблій В.А).

КС отримували під час культивування нативних культур пуповинних МСК в умовах газового інкубатора (37°C, 5 % CO₂) у безсироватковому поживному середовищі Ігла в модифікації Дульбекко (*Dulbecco's Modified Eagle Medium / Nutrient Mixture F-12 – DMEM/F12*). КС збирали після 3 пасажу, коли клітинний ріст переходив до стаціонарної фази. Стадію стаціонарного росту стабільної лінії МСК, коли настає дозрівання КС, оцінювали за формуванням конфлюентного шару клітин за допомогою інвертованого мікроскопа. КС-МСК піддавали ультрафільтрації за допомогою установки Vivaflow-200 (*Sartorius, Німеччина*) з використанням мембран (*Millipore, Німеччина*). КС-МСК порційно заморожували та зберігали за температури – 20°C [529, 530].

КС-МСК стандартизували за вмістом галектину-1 (6,0 пг/мл), який визначали імуноферментним методом та корегували за допомогою фосфатно-

сольового буфера [520]. Препарат КС-МСК з вмістом галектину-1 (6,0 пг/мл) вводили щурам в/м у дозі 0,6 мл/кг маси тіла щура [520, 531].

КЕП, КЕС та КС-МСК використано у дозах, які за даними літератури проявляли терапевтичний ефект при експериментальному (клінічному) застосуванні. Узагальнення відомостей про досліджувані БКБЗ наведено у табл. 2.3.

Таблиця 2.3

Дозовий режим та стандартизація використаних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів

БКБЗ	Доза для щурів	Стандартизація				Посилання
		предмет стандартизації	вміст на 1,0 мл БКБЗ	вміст на 1,0 кг маси тіла	вміст на 0,2 кг маси тіла	
КЕП	2,5 мл/кг	загальний білок	1,5 мг/мл	3,75 мг/кг	0,75 мг	[447]
КЕС	5,0 мл/кг		0,1 мг/мл	0,50 мг/кг	0,10 мг	[455, 456]
КС-МСК	0,6 мл/кг	галектин-1	$6,0 \times 10^{-9}$ мг/мл	$3,60 \times 10^{-9}$ мг/кг	$0,72 \times 10^{-9}$ мг	[520, 531]

2.2 Експериментальні моделі аутоімунних захворювань

Дослідження КЕП, КЕС та КС-МСК проведено на шести моделях АІЗ у лабораторних щурів:

- (1) модель РА – ад’ювантний артрит Пірсона (АА);
- (2) модель РС – експериментальний алергічний енцефаломієліт (АЕМ);
- (3) експериментальний аутоімунний тиреоїдит (АІТ);
- (4) експериментальний аутоімунний міокардит (АІМ);
- (5) модель МН – експериментальний аутоімунний нефрит Хеймана (АІН);
- (6) експериментальна аутоімунний гепатит (АІГ).

При моделюванні всіх зазначених аутоімунних процесів використовували повний ад’ювант Фрейнда (ПАФ), який вміщує вакцину БЦЖ (*від BCG – Bacillus Calmette-Guerin*) або полісахариди, отримані з

мікобактерій туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis*), складні жирні кислоти (деривати ланоліну), олії та емульгатор у співвідношенні: 10 мл ПАФ = 5 мл безводного ланоліну + 15 мл вазелінової олії + 50 мг вбитої нагріванням вакцини БЦЖ. ПАФ вважають «золотим стандартом» ад'ювантів і жоден ад'ювант не перевершує загальні імуностимулюючі властивості ПАФ (рис. 2.1) [532, 533, 534, 535].

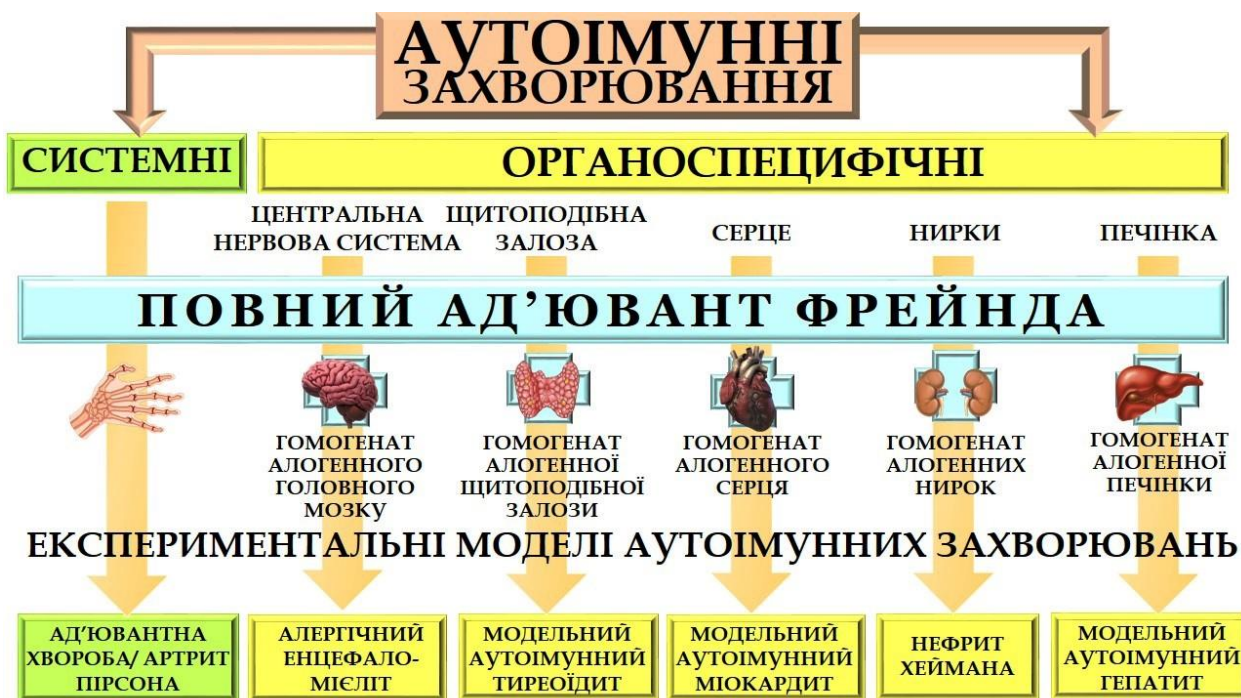


Рис. 2.1 Дизайн експериментального дослідження

ПАФ являє собою емульсію «вода в маслі», яка не розділяється на масляну та водну фази під час тривалого зберігання. Вазелінова олія, яка використовується в ПАФ, забезпечує такі три специфічні механізми дії: (1) створення депо антигену з повільним вивільненням, (2) забезпечення транспорту антигену через лімфатичну систему до дренуючих лімфатичних вузлів та селезінки, де створюються локалізовані невеликі антигенні депо та (3) взаємодія з антигенпрезентуючими клітинами, включаючи фагоцити, макрофаги та ДК [535].

Використання ПАФ сприяє індукції гіперчутливості уповільненого типу та розвитку аутоімунних процесів (стимулюють відповідь у бік профілю Th1) [532, 533, 534]. Механізм розпізнавання мікобактеріальних клітин та імунної

відповіді, опосередкований TLR-2 і TLR-4, є критично важливим для початкового розпізнавання та імунної відповіді на мікобактеріальні інфекції як макрофагами, так і ДК. Активація різних TLR призводить до різних клітинних і цитокінових відповідей, що змінює як гуморальну, так і клітинну відповідь [535].

Експериментальне відтворення органоспецифічних АІЗ проводили введенням антигенних сумішей, які складались з ПАФ та розчинних фракцій гомогенатів алогенних органів. Підґрунтям такого підходу слугували дані ***Kment A. та співавт.*** (1976 р.) про специфічне включення мічених тканинних гомогенатів у гомологічні органи щурів, що виявило значно більшу інкорпорацію в гомологічних, ніж в негомологічних органах [535].

2.2.1 Модель експериментального ревматоїдного артриту

Модель експериментального РА – АА у щурів, яка має всі морфофункціональні ознаки РА та супроводжується типовою реакцією, основною ланкою якої є Т-клітинний імунітет. АА моделювали субплантарним введенням щурам ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) в задню праву кінцівку з розрахунку 0,1 мл на щура [523]. При АА у щурів, індукованим введенням тільки ПАФ, уражуються переважно предплюсне-плюсневі, міжплюсневі, п'ясно-фалангові та кульшові суглоби задніх кінцівок, а також зап'ясно-п'ясні, міжп'ясні, п'ясно-фалангові та плечові суглоби передніх кінцівок у щурів [26].

Гостра фаза запального аутоімунного процесу триває до 14 доби, далі спостерігається генералізація (або маніфестація) АА, що характеризується розповсюдженням набряків на численні суглоби, зокрема – суглоби контралатеральної лапи, ураженням різних органів та систем, проявами морфофункціональних змін. З 28–30 доби відбувається хронізація запального процесу [536, 537, 538]. День введення ПАФ вважали як «0» день експерименту. Максимальний прояв місцевої запальної реакції, яка супроводжувалась значним збільшенням об'єму кінцівки, визначався на 12–

14 добу, далі активність запального процесу поступово зменшувалась [531, 533, 534].

Лікування АА проводилось з 14 по 28 день. КЕП, КЕС та КС-МСК вводили в/м з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 14, 17, 20, 23 та 26 дні. У якості референс-препарату використано диклофенак натрію (ДН, «Диклофенак-Біолік», ПАТ «Фармстандарт-Біолік», Україна), який вводили в/м у дозі, яка дорівнювала ED_{50} за протизапальною активністю – 8,0 мг/кг [26, 523]. Зазначена доза відповідає разовій дозі для людини 88 мг (1,25 мг/кг), що узгоджується з клінічними рекомендаціями про використання ДН у хворих по 75–100 мг/добу при його тривалому застосуванні [26].

На «0» (вихідні показники), 14 та 28 дні експерименту проводили онкометричні дослідження, оцінку больової чутливості (електроімпульсне подразнення та механічне подразнення за Рендаллом-Селітто).

Дослідження ефективності БКБЗ при АА проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп за індивідуальною больовою чутливістю, яку визначали в тесті відсмикування хвоста за дії термічного подразника:

- I (негативний контроль) – інтактні щури ($n=7$), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АА ($n=7$) без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АА ($n=7$), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили референс-препарат ДН у дозі 8,0 мг/кг [523];
- IV – щури зі змодельованим АА ($n=7$), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [447];
- V – щури зі змодельованим АА ($n=7$), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [456];

VI – щури зі змодельованим АА (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [520, 531].

На 28 день тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним CHCl_3 «рауш-наркозом» та відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові.

2.2.2 Експериментальний алергічний енцефаломієліт

Експериментальний АЕМ – це аутоімунна модель поствакцинальних і параінфекційних енцефаломієлітів та РС, яка дозволяє вивчити не тільки хронічну форму демієлінізуючих захворювань, але й гострі реактивні форми енцефаломієлітів [540]. Біохімічні, імунологічні та морфологічні зміни при АЕМ мають принципову схожість з аналогічними змінами, що супроводжують аутоімунні демієлінізуючі ураження нервової системи в клініці, це дає підставу вважати експериментальний алергічний енцефаломієліт адекватною та оптимальною моделлю [541, 542]. За даними [541, 542] АЕМ, як і РС, супроводжується порушенням проникності ГЕБ і його функціональним ослабленням, периваскулярною запальною інфільтрацією в ЦНС, розвитком процесу демієлінізації, пошкодженням олігодендроцитів і аксонів, локальною активацією гліальних клітин [543]. Активовані Т-клітини (CD4^+), інші лімфоцити і макрофаги мігрують в ЦНС через пошкоджений ГЕБ. Продукція лімфоцитами і гліальними клітинами запальних факторів зумовлює формування вогнищ запалення, демієлінізацію і фагоцитоз залишків мієліну [544]. На ранніх стадіях гострої форми експериментального АЕМ запальні цитокіни [545] і хемокіни [546] можуть ініціювати токсичний ефект щодо олігодендроцитів, який, імовірно, опосередковується дією ФНП- α або вільних радикалів; підвищення рівня останніх зумовлено надмірною активністю NO-синтази [547]. Макрофаги, які проникають у тканини ЦНС, можуть фагоцитувати мієлін і синтезувати низку факторів, потенційно небезпечних для мієлінових оболонок [548].

АЕМ моделювали шляхом одноразового введення щурам підшкірно в основу хвоста енцефалітогенної емульсії у дозі 1,0 мл/кг маси тіла. Емульсія складалась з ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) та гомогенату алогенного головного мозку у співвідношенні 1:1.

Енцефалітогенну емульсію для щурів готували за методикою **Нефьодова О.О. та співавт.** (2017 р.) [549, 550]. Алогенний головний мозок механічно диспергували при кімнатній температурі у гомогенізаторі впродовж 3 хв у холодному буферному розчині (0,175 М КСl + 0,125трис-НСl, рН=7,4) з розрахунку 33,5 мг тканини мозку + 0,05 мл буфера /100 г маси тіла щура. Розчин антигену, отриманий з гомогенату алогенного головного мозку та ПАФ у співвідношенні 1:1, «переганяли» з шприца в шприц через перехідник до загуснення емульсії, якість якої контролювали нанесенням краплі на поверхню крижаної дистильованої води. Крапля стабільної водно-масляної емульсії короткочасно занурювалась, після чого, не розтікаючись, плавала на поверхні води [542]. Перебіг АЕМ відбувається у три стадії [534]:

- 1) відтворення клонів антигенспецифічних Т- і В-лімфоцитів;
- 2) міграція антигенспецифічних Т-лімфоцитів у тканини ЦНС із загального кровотоку, пряма цитотоксична дія, продукція цитокінів;
- 3) перерозподіл клітинних популяцій, загибель і міграція антигенспецифічних Т-лімфоцитів з ЦНС. Період клінічного одужання тварин, що вижили [551].

Лікування АЕМ проводилось з 12 по 20 день експерименту. КЕП, КЕС та КС-МСК вводили через день в/м (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 12, 14, 16, 18 та 20 дні. У якості референс-препарату використано глюкокортикоїд з мінімальним мінералокортикоїдним ефектом – метилпреднізолон (МП, «Депон-Медрол», *Пфайзер Менюфекчуриг, Бельгія*), який вводили внутрішньовенно (в/в) в дозі 3,4 мг/кг [552]. МП є базовим препаратом у лікуванні загострень РС, оскільки пригнічує утворення нових вогнищ демієлінізації шляхом уповільнення активації та проліферації Т-лімфоцитів, індукції їх апоптозу у периферичній крові та паренхімі мозку, зменшення

утворення антитіл, а також зниження проникності гематоенцефалічного бар'єру [553].

Дослідження ефективності БКБЗ при АЕМ проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

- I (негативний контроль) – інтактні щури ($n=7$), яким на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АЕМ ($n=7$) без лікування (контрольна група), яким на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АЕМ ($n=7$), яким на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту в/в вводили референс-препарат МП у дозі 3,4 мг/кг [552];
- IV – щури зі змодельованим АЕМ ($n=7$), яким на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [447];
- V – щури зі змодельованим АЕМ ($n=7$), яким на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [456];
- VI – щури зі змодельованим АЕМ ($n=7$), яким на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [520, 531].

На 22 день тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним CHCl_3 «рауш-наркозом», відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові та екстирпували головний мозок для подальших досліджень.

2.2.3 Модель аутоімунного тиреоїдиту

АІТ моделювали шляхом введення щурам тиреоїдної антигенної суміші, яка складалась з ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної ЩЗ у співвідношенні 1:1 [554, 555].

ЩЗ гомогенізували у 0,9 % розчині NaCl з розрахунку 1 мл/100 мг, фільтрували через капроновий фільтр та центрифугували впродовж 5 хв при 1000 об./хв. Відбирали супернатант, що вміщував антиген ЩЗ, який

стандартизували за вмістом загального білка (1–1,5 мг/мл), який визначали біуретовим методом [555, 556, 557].

Отриману тиреоїдну антигенну суміш вводили щурам підшкірно в основу хвоста у дозі 1,0 мл/кг маси тіла двічі з інтервалом у 7 днів [555, 556].

Розвиток АІТ верифікували за рівнем антитіл до ТГ через 7 днів після другого введення тиреоїдної антигенної суміші (на 14 день експерименту). У якості референс-препарату використано синтетичну форму Т4 – левотироксин («L-тироксин 125 Берлін-Хемі», Берлін-Хемі АГ, Німеччина), який вводили внутрішньошлунково (в/шл) в дозі 0,01 мг/кг щоденно з 17 по 26 день експерименту (усього 10 введень) [555]. У периферичних тканинах L-тироксин перетворюється у Т3 та забезпечує адекватне відновлення функції ЩЗ [558].

Дослідження ефективності БКБЗ при АІТ проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

- I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АІТ (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АІТ (n=7), яким щоденно з 17 по 26 дні експерименту в/шл вводили референс-препарат L-тироксин у дозі 0,01 мг/кг (усього 14 введень) [523];
- IV – щури зі змодельованим АІТ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [447];
- V – щури зі змодельованим АІТ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [456];
- VI – щури зі змодельованим АІТ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [520, 531].

На 14 день експерименту відбирали зразки венозної крові, а на 28 добу експерименту тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної

дислокації під інгаляційним CHCl_3 «рауш-наркозом» та відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові.

2.2.4 Експериментальний аутоімунний міоакрдит

АІМ моделювали за методикою Павленко Г.П. [559] шляхом внутрішньоочеревинного (в/о) введення щурам кардіотропної антигенної суміші, яка складалась з ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату аlogenного серця у співвідношенні 1:4. Серця гомогенізували у 0,9 % розчині NaCl з розрахунку 1 мл/100 мг, центрифугували впродовж 5 хв при 1000 об./хв, відбирали супернатант та змішували з ПАФ. Отриману кардіотропну антигенну суміш вводили щурам 4 рази впродовж 14 днів (з інтервалом 3 дні) по 1,0 мл/кг маси тіла (на 1, 5, 9 та 13 дні експерименту) [559, 560, 561]. БКБЗ вводили в/м, з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту. В якості референс-препарату обрано інгібітор реполяризації міокарда з α та β -блокуючою дією кордарон («Кордарон®», *Санофі Вінтроп Індастрія, Франція*) в дозі 10 мг/кг [562], який вводили в/в на ізотонічному (5,0%) розчині глюкози за аналогічною схемою.

Дослідження ефективності БКБЗ при АІМ проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

- I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АІМ (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/в вводили референс-препарат кордарон у дозі 10 мг/кг [562];

IV – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [447];

V – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [456];

VI – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [520, 531].

На 28 день тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним СНСL₃ «рауш-наркозом» та екстирпували серце для подальших досліджень.

2.2.5 Експериментальний аутоімунний нефрит

АІН (син. нефрит Хеймана), як експериментальну модель аутоімунної мембранозної нефропатії, відтворювали за методикою **Heymann W.R. та співавт.** (1965 р.) [319] у модифікації Віхерта А.М. (1973 р.) шляхом введення щурам нефротропної антигенної суміші, яка складалась з ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної тканини нирок у співвідношенні 1:1 [563, 564, 565]. Нирковий антиген виготовляли з коркового шару нирок у вигляді 20,0 % гомогенату, до якого додавали антибіотик амікацин у дозі 2000 ОД/мл з метою запобігання розвитку інфекції. ПАФ та нирковий антиген змішували безпосередньо перед використанням. Отриману суміш вводили тваринам у дозі 7,4 мл/кг в рівній кількості у п'ять ділянок тіла – підшкірним (п/ш) в пахові та пахвові ділянки, а також в/о. Через 4 тижні з метою потенціювання аутоімунного процесу введення нефротропної антигенної суміші повторювали в/о [566, 567, 568, 569, 570].

Досліджувані препарати вводили щурам з 60 доби експерименту [563]. БКБЗ вводили в/м, з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту. В якості референс-препарату обрано комбінований рослинний лікарський засіб з нефропротекторною активністю – канефрон («Канефрон® Н», *Біонорика СЕ, Німеччина*), що містить

стандартизований екстракт BNO-1040 з трави золототисячника (*Herbae Centaurii*), кореня любистку (*Radici Levistici*) та листя розмарину (*Foliorum Rosmarini*) [571]. Канефрон вводили в/шл на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в дозі 27 мг/кг [572], розрахованої методом [523, 528].

Дослідження ефективності БКБЗ при АІН проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

- I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АІН (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/шл вводили референс-препарат канефрон у дозі 27 мг/кг [572];
- IV – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [447];
- V – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [456];
- VI – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [520, 531].

На 70 день експерименту проводили оцінку функціонального стану нирок за умов спонтанного діурезу – щурів утримували 24 год. у спеціальних обмінних клітках для збору сечі (добовий діурез, мл/1440 хв), після чого тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним СНСL₃ «рауш-наркозом», відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові та екстирпували нирки для подальших досліджень.

У якості інтегральних показників функціонального стану нирок розраховували кліренс креатиніну та швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ). Кліренс креатиніну визначали за формулою 2.1 [573]:

$$\text{Кліренс креатиніну (мл /хв)} = \frac{\text{Креатинін сечі (мкмоль/л)} \times \text{Добовий діурез (мл)}}{\text{Креатинін плазми крові (мкмоль/л)} \times 1440 \text{ хв}} \quad (2.1)$$

ШКФ у щурів розраховували за формулою 2.2, яка ґрунтується на показниках маси тіла, концентрації креатиніну та концентрації сечовини в плазмі крові, за методикою **Besseling P.J. та співавт.** (2021 р.) [574]:

Рівень креатиніну
в плазмі крові (2.2)

< 52 мкмоль/л	$\text{ШКФ}_{(\text{мкл/хв})} = 880 \times \text{маса тіла}_{(\text{г})}^{0,695} \times \text{КРТ}^{-0,660} \times \text{СЕЧ}^{-0,391}$
≥ 52 мкмоль/л	$\text{ШКФ}_{(\text{мкл/хв})} = 5862 \times \text{маса тіла}_{(\text{г})}^{0,695} \times \text{КРТ}^{-1,150} \times \text{СЕЧ}^{-0,391},$

де КРТ – концентрація креатиніну в плазмі крові (мкмоль/л);

СЕЧ – концентрація сечовини в плазмі крові (ммоль/л).

-

2.2.6 Модель аутоімунного гепатиту

Аутоімунний гепатит (АІГ) у щурів моделювали шляхом введення щурам гепатотропної антигенної суміші, яка складалась з ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної печінки [575].

Гомогенат тканини печінки виготовляли з дотриманням правил асептики за стандартною методикою підготовки тканинних антигенів [535]. Фрагменти печінки подрібнювали ножицями та відмивали від крові у холодному 0,9 % розчині NaCl, після чого розтирали у ступці з кварцевим піском. Гомогенну масу переносили у колбу, розчиняли ізотонічним розчином у співвідношенні 1:2, перемішували пропусканням триразово через шприц та відстоювали при -4°C близько 20 годин. Надосадну рідину центрифугували протягом 30 хв при 3000 об./хв при -4°C . В надосадній рідині визначали вміст білка та доводили його концентрацію до 80 мг на 1 мл гомогенату. Стандартизований за вмістом білка гомогенат печінки змішували з ПАФ у співвідношенні 1:1 та «переганяли» з шприца в шприц через перехідник до загуснення, щоб крапля отриманої емульсії не руйнувалась у воді протягом 30 хв [576].

Гепатотропну антигенну суміш вводили щурам в/м по 2,0 мл 1 раз на тиждень впродовж 6 тижнів (1, 7, 14, 21, 28 та 35 дні експерименту) [575].

Досліджувані препарати починали вводити через 7 днів після останньої ін'єкції гепатотропної антигенної суміші [575]. БКБЗ вводили в/м, з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту. В якості референс-препарату обрано гепатопротектор силібор («Силібор 35», ТОВ «Фармацевтична компанія "Здоров'я"», Україна) – рослинний екстракт з насіння розторопші плямистої (*Silybum marianum*) [577, 578]. Силібор вводили в/шл на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в дозі 50 мг/кг [579, 580].

Дослідження ефективності БКБЗ при АІГ проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

- I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АІГ (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/шл вводили референс-препарат силібор у дозі 50 мг/кг [579];
- IV – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [447];
- V – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [456];
- VI – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [520, 531].

На 52 день експерименту тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним CHCl₃ «рауш-наркозом», відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові та екстирпували печінку для подальших досліджень. Узагальнення відомостей про всі використані у роботі референс-препарати та режими їх застосування наведено у табл. 2.4.

Таблиця 2.4

Узагальнена фармацевтична характеристика всіх використаних у роботі референс-препаратів

Модель АІЗ	Референс-препарат (міжнародна непатентов. назва)	Фармакологічна група	АТХ-код	Торгова назва (виробник, країна)	Дозвільні документи	Форма випуску	Шлях введення, дозування	Посилання
АА	Диклофенак натрію (Diclofenac)	НПЗЗ	M01A B05	Диклофенак-Біолік (ПАТ «Фармстандарт-Біолік», Україна)	Посвідчення UA/10902/01/01 від 12.05.2017 р. <i>необмежене</i>	амп. 3,0 мл	в/м, 8,0 мг/кг	[523]
АЕМ	Метилпреднізолон (Methylprednisolone)	Глюкокортико-стероїди	H02A B04	Депо-Медрол (Пфайзер Менюфекчуринг, Бельгія)	Посвідчення UA/10030/01/01 від 24.06.2019 р. <i>необмежене</i>	суспенз. 1,0 мл 40 мг/мл	в/в, 3,4 мг/кг	[552]
АІТ	Левотироксин (Levothyroxine sodium)	Тиреоїдні гормони	H03A A01	L-тироксин 125 Берлін-Хемі (Берлін-Хемі АГ, Німеччина)	Посвідчення UA/8133/01/04 від 06.03.2018 р. <i>необмежене</i>	таб. 125 мкг	в/шл, 0,01 мг/кг	[555]
АІМ	Кордарон (Amiodarone)	Антиаритм. засоби III класу	C01B	Кордарон® (Санофі Вінтроп Індастрія, Франція)	Посвідчення UA/3683/01/01 від 26.05.2020 р. <i>необмежене</i>	амп. 3,0 мл 50 мг/мл	в/в, 10 мг/кг	[562]
АІН	Канефрон (Comb drug)	Засоби, що застосовуються в урології	G04B X	Канефрон® Н (Біонорика СЕ, Німеччина)	Посвідчення UA/4708/01/01 від 20.10.2021 р. <i>необмежене</i>	флакон 100 мл	в/шл, 27 мг/кг	[572]
АІГ	Силібор (Silymarin)	Гепатотропні препарати	A05B A03	Силібор 35 (ТОВ «Фарм. компанія "Здоров'я"», Україна)	Посвідчення UA/5114/01/01 від 10.12.2020 р. <i>необмежене</i>	таб. 35 мг	в/шл, 50 мг/кг	[579]

2.3 Характеристика методик дослідження

2.3.1 Онкометрична оцінка протизапальної активності БКБЗ

на моделі ад'ювантного артриту у щурів

Розвиток запальної реакції оцінювали за динамікою об'єму кінцівки (у мл), яку визначали за допомогою електронних ваг (*Radwag WLC 0.2/C/1, Польща*) та ємності з рідиною. Об'єм кінцівки визначали за об'ємом рідини, яку виміщувала кінцівка при зануренні [26, 581]. У якості рідини обрано воду. Враховуючи, що за температури 14–17°C щільність води становить 0,998–0,999 г/мл, об'ємні показники зануреної кінцівки тварини умовно порівнювали значення маси води, що виміщувалась: 1 г = 1 мл.

Протизапальну активність (ПЗА, %) в динаміці набряку кінцівки у щурів розраховували за формулою 2.3:

$$\text{ПЗА} = \Delta V_{\text{п контрольної групи}} - \Delta V_{\text{п дослідної групи}} \quad (2.3)$$

де: ПЗА – протизапальна активність, %;

$\Delta V_{\text{п}}$ – приріст об'єму ушкодженої кінцівки щурів у день n відносно вихідних показників, %.

2.3.2 Дослідження знеболюючої активності

Знеболюючу активність вивчали в умовах індукованої больової реакції у щурів (табл. 2.5). Індукцію больових відчуттів проводили електричним струмом (електроімпульсне подразнення С0 прямої кишки у щурів) та механічним подразненням (тензоалгозиметрія за Рендаллом-Селітто). Аналгетичну активність оцінювали за величиною порогу больової чутливості (ПБЧ) або тривалістю латентного періоду больової реакції (ЛПБР).

**Методики дослідження механізмів аналгетичної дії
за рівнями реалізації антиноцицептивної дії [523, 583]**

Рівень реалізації ноцицепції	Методика дослідження	Досліджувана реакція
Супраспінальний рівень – центральний – (кірковий, – підкірковий); – супрасегментарний (ретиккулярна формація, таламус)	Тест теплової імерсії хвоста	Комплекс супраспінальних рухових реакцій, вокалізація
	Електроімпульсне подразнення СО прямої кишки	Комплекс супраспінальних рухових реакцій, вокалізація
Спінальний рівень (периферичний)	Тест теплової імерсії хвоста	Спінальний рефлекс відсмикування хвоста
	Електроімпульсне подразнення СО прямої кишки	Випрямлення хвоста
	Randall-Selitto test	Спінальний рефлекс відсмикування кінцівки

Перед розподілом тварин на групи проводили їх рандомізацію за індивідуальною больовою чутливістю, яку визначали в тесті відсмикування хвоста за дії термічного подразника (тест теплової імерсії хвоста) та відбирали для подальших досліджень тварин, ЛПБР в яких відповідав діапазону від 7 с до 12 с включно [523].

2.3.2.1 Термічне подразнення (для рандомізації тварин)

Больове подразнення у щурів викликали шляхом занурення хвоста (*tail immersion test*) лабораторних тварин на 3 см у воду зі сталою $t = 52,0 \pm 0,2$ °C у лабораторний стакан (400 мл) довкола якого циркулювала вода для підтримання заданої температури води всередині ємності за допомогою водяної бані [523, 582].

Тест теплової імерсії хвоста ґрунтується на спінальному флексорному рефлексі, який виникає у відповідь на занурення хвоста у підігріту воду. Перед тестуванням тварину фіксували в індивідуальному плексигласовому пеналі Когана О.Х. Величину больового відчуття реєстрували за тривалістю (с) латентного періоду відсмикування хвоста у відповідь на термічне подразнення.

2.3.2.2 Механічне подразнення за Рендаллом-Селітто

Дослідження проводили за допомогою механічного тензоалгозіметра «Paw Pressure Analgesia Meter DAQ 37215» (*Ugo Basile, Італія*). ПБЧ визначали за максимальним механічним тиском (у грамах) на дорзальну поверхню задньої кінцівки при наростаючій силі компресії зі швидкістю 39,2 г/с, який викликає рефлексорне висмикування кінцівки. Максимально-можливі величини тиску від приладу – 375 г (25 см). Визначення ПБЧ проводили тричі із наступним розрахунком середнього арифметичного показника для кожної тварини [583].

2.3.2.3 Електроімпульсне подразнення

Больове подразнення у щурів викликали шляхом електроімпульсного подразнення СО прямої кишки від електростимулятора лабораторного «ЕСЛ-2», який генерував прямокутні П-подібні електричні імпульси з параметрами: частота – 100 Гц, тривалість – 5 мс та затримка – 5 мс [26, 584, 585]. Щура фіксували в модифікованому індивідуальному плексигласовому пеналі Когана О.Х. таким чином, щоб задні кінцівки тварини спирались на металеву пластину, розміщену на дні внутрішньої поверхні пеналу, яка виконувала функцію електроду [585]. Другий електрод електричного ланцюга мав вигляд металевого стрижня діаметром 0,5 см та довжиною 4 см вводили у пряму кишку щура. За ПБЧ приймали таку напругу (В) електричного струму, що викликала ноцицептивну реакцію у щурів, яку визначали за вокалізацією [26, 523, 584].

2.3.3 Вивчення неврологічного дефіциту

2.3.3.1 Оцінка м'язового тону на моделі алергічного енцефаломієліту у щурів

Щурів підвішували передніми лапами на дріт, натягнутий на висоті 25 см від поверхні стола та фіксували час утримування у секундах. Інтактні щури швидко підтягуються та утримуються чотирма лапами, що характерно для тварин з нормальним м'язовим тонусом. Зменшення часу утримування тварин свідчило про порушення м'язового тону та розвиток у них неврологічного дефіциту [586]. М'язовий тонус оцінювали на «0» (вихідний стан), 12 та 21 дні експерименту.

2.3.3.2 Дослідження поведінкових реакцій (тест «відкрите поле»)

Поведінкові реакції тварин (рухову, дослідницьку та емоційну активність) досліджували у тесті «відкрите поле», який базується на конфлікті інстинктивної мотивації до дослідження нового оточення і тенденції до мінімізації можливої небезпеки з його боку.

Устаткування тесту «відкрите поле» для щурів являє собою освітлену білу квадратну платформу на ніжках розміром 80 × 80 см, обмежену вертикальними стінками висотою 40 см. Підлога платформи розкреслена на 16 однакових квадратів розміром 20 × 20 см з отворами («нірками») діаметром 3,5 см у центрі кожного квадрата. Для дослідження поведінкових реакцій щурів по черзі поміщали в центр квадратної платформи та впродовж 3 хвилин реєстрували поведінкові реакції, які обраховували як суму епізодів за типом активності [523, 542, 587]:

1. *рухова активність* (кількість квадратів, у які зайшла тварина);
2. *дослідницька активність* (сумарна кількість підйомів на задні кінцівки та кількість зазирань та/або обнюхувань «нірок»);
3. *емоційна активність* (сумарна кількість епізодів короткочасного грумінгу (умивань), фекальних болюсів та актів уринації).

Поведінкові реакції щурів оцінювали на «0» (вихідний стан), 12 та 21 дні експерименту.

2.3.3.4 Цитофлуориметричні дослідження вмісту ДНК

Цитофлуориметричні дослідження проведені для дослідження ефективності КЕП, КЕС та КС-МСК при АІГ у щурів. Протокову ДНК-цитометрію виконували на багатофункціональному проточному цитометрі «Partec PAS» (*Partec, Німеччина*)².

Клітинні суспензії, одержані з тканинних гомогенатів, дворазово еквілібрували у фосфатно-сольовому буферному розчині (ФСБ) з рН=7,4 та відділяли центрифугуванням. Клітини фіксували, додаючи 0,7 мл охолодженого на льоду 100% етанолу до суспензії 1×10^6 клітин у 0,3 мл холодного ФСБ, витримували за температури -20°C протягом 30 хв у темряві, центрифугували та видаляли надосадову рідину.

Для екстракції ядер додавали 250 мкл розчину РНКазі з концентрацією 500 Од/мл у ФСБ з 1,12% цитрату натрію. Суміш обережно перемішували на вортексі та інкубували за $+37^{\circ}\text{C}$ протягом 30 хв. До нуклеарної суспензії додавали 250 мкл розчину пропідію йодиду в концентрації 50 мг/мл, інкубували за кімнатної температури 1 год у темряві та проводили цитофлуориметричні дослідження у каналі FL3 (650 нм) для детекції флуоресценції пропідію йодиду [588] при швидкості потоку (менше 400 подій/секунду) для оптимальної роздільної здатності флуоресценції [589]. З кожного зразка ядерної суспензії здійснювався аналіз 10 тис. подій [590].

ДНК-гістограми розподілу клітин за фазами клітинного циклу інтерпретували за інтервалами флуоресценції (інтервал [SUB-G0] (апоптоз); інтервал [G0– G1]; інтервал [G2–M] та S (табл. 2.6)) [591] та визначали інтегральний показник – **проліферативний індекс (ПІ)**, який розраховували за формулою 2.4 [594]:

$$\text{ПІ} = \frac{S + [G2-M]}{S + [G2-M] + [G0- G1]} \quad (2.4)$$

² дослідження проведені за консультативної допомоги завідувача кафедри фармації Національного університету охорони здоров'я імені П.Л. Шупика МОЗ України, д. фарм. н., ст. досл. Соловійова С.О.

Характеристика фаз клітинного циклу

Клітинний цикл	Період	Фаза	Характеристика [589, 592]	Плоїдність ДНК, n [591]	Ум. од. флуорисценції [593]
—	—	—	Апоптоз	<n	20–150
Фаза спокою	Кінцева диференціація	G0	Ріст клітини (без поділу)	n	150–250
Інтерфаза	Пресинтетичний	G1			
	Синтетичний	S	Редуплікація ДНК	1–2n	250–350
	Постсинтетичний	G2	Підготовка до мітозу та мітоз	2n	350–450
Мітоз		M			

2.3.5 Дослідження морфофункціонального стану серцево-судинної системи у щурів

Сонографічне дослідження серця проводили за допомогою ультразвукового ехотомоскопа «Сономед 500» («Полі-Спектр», Україна) у В- та М-режимах з використанням лінійного датчика 7,5L38 з частотою 7,5 МГц.

Ультразвукове сканування проводили в площині, перпендикулярній поверхні грудної клітки з парастернального доступу по довгій осі серця. При дослідженні в М-модальному режимі вимірювали структури порожнин серця – діаметри та дистанції [596, 597]:

- кінцево-діастолічний діаметр (КДД) лівого шлуночка (ЛШ), мм;
- кінцево-систолічний діаметр ЛШ (КСД, мм);
- товщину міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД, мм);
- товщину міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС, мм);
- товщину задньої стінки ЛШ у діастолу (ТЗСД, мм);
- товщину задньої стінки ЛШ у систолу (ТЗСС, мм).

Після вимірювання зазначених параметрів анатомічних структур у автоматичному режимі проведено розрахунок морфометричних та функціональних характеристик серця (табл. 2.7).

Таблиця 2.7

Формули для розрахунку морфометричних показників ЛШ

Показник	Формула розрахунку	Одиниці виміру
Кінцево-діастолічний об'єм (КДО)	$(7 \times (0,1 \times \text{КДД})^3) / (2,4 + (0,1 \times \text{КДД}))$	мл
Кінцево-сistolічний об'єм (КСО)	$(7 \times (0,1 \times \text{КСД})^3) / (2,4 + (0,1 \times \text{КСД}))$	мл
Ударний об'єм (УО)	$\text{УО} = \text{КДО} - \text{КСО}$	мл
Хвилинний об'єм (ХО)	$\text{ХО} = \text{УО} \times \text{ЧСС}$	мл/хв
Відносна товщина стінки ЛШ (ВТС)	$\text{ВТС} = \text{ТЗСД} \times 2) / \text{КДД}$	ум. од.
Маса міокарда ЛШ (ММ), формула Devereux R.B. [598]	$0,832 \times ((\text{ТМПД} + \text{КДД} + \text{ТЗСД})^3 - \text{КДД}^3) + 0,6$	г

Також проведено розрахунок показників скоротливої функції міокарда ЛШ (табл. 2.8).

Таблиця 2.8

Показники скоротливої функції міокарда ЛШ

Показник	Формула розрахунку	Одиниці виміру
Відсоток систолічного потовщення міжшлуночкової перегородки (СПМШП)	$(\text{ТМПС} - \text{ТМПД}) / \text{ТМПД} \times 100\%$	%
Відсоток систолічного потовщення задньої стінки ЛШ (СПЗСШ)	$(\text{ТЗСС} - \text{ТЗСД}) / \text{ТЗСД} \times 100\%$	%
Фракція вкорочення (ФВк)	$(\text{КДД} - \text{КСД}) / \text{КДД} \times 100\%$	%
Фракція викиду (ФВ)	$\text{ФВ} = \text{УО} / \text{КДО}$	%

2.3.6 Гематологічні, біохімічні та імунологічні дослідження

Узагальнені відомості про проведені гематологічні, біохімічні та імунологічні дослідження на моделях АІЗ у щурів наведено у табл. 2.9.

Таблиця 2.9

Матриця гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень на моделях АІЗ у лабораторних тварин

Експериментальні моделі → Досліджуваний показник ↓	АА	АЕМ	АІТ	АІМ	АІН	АІГ
Еритроцити, лейкоцити, ШОЕ	К					
Вміст ТБК-РП				Т		Т
Активність каталази				Т		Т
Активність СОД						Т
Активність NO-синтаз					Т	
Вміст метаболітів NO					К	
Вміст аденілових нуклеотидів		Т				Т
Активність АлаТ, АсАт, γ-ГТП						К
Вміст загального білка					К, С	К
Вміст С-РБ	К					
Активність ЛФ	К					К
Вміст серомукоїду	К					
Концентрація білірубіну						К
Концентрація сечовини					К	
Концентрація креатиніну					К, С	
Вміст ПГ Е2, ЛТ В4, Тх В2	К				Т	
Вміст ІЛ 1, 2, 4, 6, 10, 17, ФНП-α	К					
Вміст Т3 Т4, антитіла до ТГ			К			
Вміст Іg А, М, G			К			
Вміст лактату, пірувату, малату		Т				

Примітки.

1. Об'єкт дослідження: К – кров, Т – тканини (гомогенат головного мозку, серця, нирок, печінки), С – сеча;
2. Моделі АІЗ: АА – ад'ювантний артрит, АЕМ – алергічний енцефаломієліт, АІТ – аутоімунний тиреоїдит, АІМ – аутоімунний міокардит, АІН – аутоімунний нефрит, АІГ – аутоімунний гепатит.

Матеріалом дослідження виступали сироватка цільної периферичної крові та гомогенати біологічних тканин (головний мозок, щитоподібна залоза, нирки, печінка). Зразки змішаної крові після декапітації тварин відбирали у центрифужні пробірки. Сироватку відділяли центрифугуванням впродовж 15 хв при 3000 об/хв.

Для отримання гомогенату тканини промивали холодним (+4°C) ізотонічним 1,15 % розчином KCl та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15 % розчину KCl), отримуючи 10,0 % гомогенат. Постядерний супернатант отримували шляхом центрифугування гомогенату впродовж 30 хв при 600 g з подальшим відбором аліквот у мікропробірки «Eppendorf». Депротейнізований екстракт отримували додаванням до гомогенату тканини трихлороцтової кислоти (0,6 М) з подальшою нейтралізацією 5,0 М калію карбонатом. При визначенні активності NO-синтаз гомогенат промивали холодним (+4°C) буферним розчином (250 ммоль сахароза, 5 ммоль Na₂EDTA, 5 ммоль трис-HCl буфер (pH = 7,4)) та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину. Короткий опис методик проведення гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень наведено у табл. 2.10.

Таблиця 2.10

Методики гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень

№ з/п	Досліджуван-ний показник	Принцип визначення	Поси-лання
1.	Вміст ТБК-РП	Визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. за реакцією з тіобарбітуровою кислотою та розраховували за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 535$ нм, враховуючи коефіцієнт молярної екстинції забарвленого у червоний колір комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль ⁻¹ / см ⁻¹ . <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> гомогенат біологічної тканини – мкмоль / кг тканини	[599]

-1-	-2-	-3-	-4-
2.	Активність каталази	Визначали спектрофотометрично за методом Корольок М.А. та співаєт. за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 410$ нм. Метод ґрунтується на здатності каталази розкладати H_2O_2 та утворювати стійкий комплекс жовтого кольору з амоній молібдатом (4,0 % – 1,0 мл), який додають для зупинки реакції H_2O_2 з каталазою. АПІ визначали за формулою: $\text{АПІ} = (\text{Активність каталази} \times 100) / \text{Вміст ТБК-РП.}$ Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – мкат / кг тканини	[600, 601]
3.	Активність супероксид-дисмутази (СОД)	Визначали спектрофотометрично за методом Чевари С. та співаєт. за здатністю СОД інгібувати відновлення нітротетразолію синього при наявності НАДН_2 за показниками оптичної щільності, визначеними при довжині хвилі $\lambda = 540$ нм. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – ум.од. / кг	[602, 603]
4.	Активність NO-синтаз: загальна (NOS) конститутивна (cNOS) індукцйбельна (iNOS)	Визначали спектрофотометричним методом за кількістю НАДФН_2 , що окислюється. Гомогенати інкубували 20 хв при температурі 40°C з 1 мл реакційної суміші (при визначенні сумарної активності NOS (iNOS та cNOS): CaCl_2 , трис- HCl , MgCl_2 $\text{НАДФН}+\text{H}^+$, L-Арг; при визначенні активності iNOS: ЕДТА, трис- HCl , MgCl_2 , $\text{НАДФН}+\text{H}^+$, L-Арг). Реакцію зупиняли додаванням 0,3 мл HClO_4 та центрифугували (3000 об/хв), у надосадовій рідині визначали концентрацію $\text{НАДФН}+\text{H}^+$, яку реєстрували за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 340$ нм. Активність cNOS визначали як різницю NOS та iNOS. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – нмоль НАДФН_2 / хв $\times$ г білка	[604, 605]
5.	Вміст метаболітів NO	Вміст стабільних метаболітів NO визначали спектрофотометричним методом за реакцією Griess P. (1879 p.) у модифікації, що полягає у відновленні нітратів в нітрити хлоридом ванадію (III) та діазотуванням. Концентрацію NO визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 540$ нм. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: сироватка крові – мкмоль/л.	[606]

-1-	-2-	-3-	-4-
6.	Вміст аденілових нуклеотидів	Вміст аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ), аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) досліджували у депротейнізованому гомогенаті хроматографічним методом. Аденілатний енергетичний заряд (АЕЗ) за D. Atkinson & G. Walton (1968 р.) розраховували за формулою: $АЕЗ = (АТФ + 0,5 \times АДФ) / (АТФ + АДФ + АМФ).$ Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – мкмоль / г сухої тканини	[607, 608]
7.	Активність АлАт	Визначали спектрофотометрично за методом Reitman S. та Frankel S., який ґрунтується на тому, що внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією АлАт, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі при довжині хвилі $\lambda = 530$ (500–560) нм. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: сироватка крові – мкмоль / (мл×год)	[603, 609]
8.	Активність АсАт	Визначали спектрофотометрично за методом Reitman S. та Frankel S., який ґрунтується на тому, що внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке відбувається під дією АсАт, утворюються L-глутамінова та щавлевооцтова к-та, яка декарбоксилюється до піровиноградної к-ти. Розраховували коефіцієнт де Рітиса = АсАт / АлАт. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: сироватка крові – мкмоль / (мл×год)	[603, 609]
9.	Активність γ -ГТП	Визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на тому, що під дією γ -ГТП глутаміновий залишок з гамма-L-(+)-глутаміл-4-нітроаналіду переходить на дипептидний акцептор – гліцилгліцин. При цьому вилучається хромоген-пнітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють при довжині хвилі $\lambda = 405$ (400–430) нм після гальмування ензиматичної реакції ацетатною к-тою. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: сироватка крові – Од /л	[603, 610, 611]

-1-	-2-	-3-	-4-
10.	Вміст загального білка та його фракцій: альбуміни глобуліни	Визначали спектрофотометричним методом за біуретовою реакцією, яка полягає в тому, що в лужному середовищі йони двовалентного купруму (CuSO_4) взаємодіють із білками з утворенням комплексу фіолетового кольору та відновленням фосформолібденової кислоти тирозином та триптофаном (<i>реакція Лоурі</i>). Концентрацію білка визначали спектрофотометрично за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 546$ нм. Кількісне співвідношення білкових фракцій плазми крові визначали нефелометричним методом з використанням фосфатних буферів, який ґрунтується на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують альбуміни і глобуліни з утворенням суспензії, ступінь каламутності якої визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 625$ (590–700) нм. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – г / л; сеча – екскреція білка (протеїнурія) – мг / добу; гомогенат біологічної тканини – мкг / мг тканини;	[603, 612]
11.	Вміст С-реактивного білка (С-РБ)	Визначали за ступенем аглютинації та помутніння за допомогою латексного діагностичного тесту для виявлення С-реактивного білка в сироватці крові. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – мг / л.	[603]
12.	Активність лужної фосфатази (ЛФ)	Визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на властивості ЛФ гідролізувати ефірний зв'язок у β-гліцерофосфаті з відщепленням фосфатної кислоти. Вміст фосфору, що утворився, визначають за реакцією з молібденовим реактивом у присутності аскорбінової кислоти. Інтенсивність забарвлення молібденового синього пропорційна кількості фосфору. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – мкмоль / (год$\times$л)	[603, 613]

-1-	-2-	-3-	-4-
13.	Вміст серомукоїду	Визначали спектрофотометрично за методом Weimer H.E. та Moshin R.J., який полягає у осадженні білків сироватки крові 1,8 М розчином перхлорної кислоти (HClO_4), виділенні серомукоїду з фільтрату за допомогою фосфорно-вольфрамової кислоти та подальшому кількісному визначенні за різницею світлопоглинання при довжині хвилі $\lambda = 260 \text{ нм}$ і $\lambda = 280 \text{ нм}$. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – ммоль/л.	[603]
14.	Концентрація білірубіну: загального прямого зв'язаного	Визначали спектрофотометрично за реакцією діазофенілсульфонової к-ти з прямим білірубіном. При внесенні кофеїнового реактиву непрямий білірубін переходить у розчинний стан та з сумішшю діазореактивів дає рожево-фіолетове забарвлення. За інтенсивністю забарвлення визначали концентрацію прямого і загального білірубіну. Інтенсивність забарвлення визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 500\text{--}560 \text{ нм}$. За різницею між загальним і прямим білірубіном розраховували концентрацію непрямого білірубіну. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – ммоль /л.	[603, 614, 615]
15.	Концентрація сечовини	Визначали спектрофотометрично за реакцією амоніаку з 2-оксоглутаратом за участю глутаматгідрогенази з утворенням L-глутамінату. Швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину, яку вимірювали при довжині хвилі $\lambda = 340 \text{ нм}$, прямо пропорційна концентрації сечовини. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – ммоль /л.	[603, 616].
16.	Концентрація креатиніну	Визначали спектрофотометрично за реакцією пікратів з креатиніном (<i>реакція Яффе</i>) у лужному середовищі з утворенням похідного 2,4,6-тринітроциклогексодієну жовто-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення останнього прямо пропорційна концентрації креатиніну, яку визначали при довжині хвилі $\lambda = 530 (500\text{--}560) \text{ нм}$. <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – мкмоль / л; сеча – ммоль /л. За показниками концентрації креатиніну та сечовини розраховували кліренс креатиніну [573] та ШКФ за Besseling P.J. та співавт. (2021 р.) [574].	[617]

-1-	-2-	-3-	-4-
17.	Вміст лактату	Визначали спектрофотометрично за методом Hohorst H.-J. [619]. У присутності лактатдегідрогенази лактат переходить у піруват, причому зв'язування, утвореного в ході реакції пірувату гідразин-гліциновим буфером сприяє повному окисленню лактату. Лактат + НАД⁺ + гідразин → гідразин-піруват + НАДН + Н₂О Утворення відновленої форми НАД (НАД-Н) еквівалентно кількості окисленого лактату, яку реєстрували при довжині хвилі $\lambda = 340$ нм. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – мкмоль /г тканини.	[618]
18.	Вміст малату	Визначали спектрофотометрично за методом Hohorst H.-J. [620]. У присутності малатдегідрогенази малат перетворюється на щавлевооцтову кислоту, зв'язування якої гідразин-гліциновим буфером забезпечує повне окислення малату: малат + НАД⁺ + гідразин → оксалоацетат-гідразин + НАДН + Н₂О. Утворення відновленої форми НАДН еквімолярне кількості окисленого малату, збільшення якого реєстрували при довжині хвилі $\lambda = 340$ нм. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – мкмоль /г тканини.	[618]
19.	Вміст пірувату	Визначали спектрофотометрично за методом Czok R. & Lamprecht W. [621, 622]. У присутності лактатдегідрогенази (ЛДГ) піруват відновлюється до лактату: піруват + НАДН + Н⁺ ↔ лактат + НАД⁺ Кількість використаного у реакції пірувату еквімолярна кількості НАДН, зменшення якого визначали при довжині хвилі $\lambda = 340$ нм. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – мкмоль /г тканини.	[618]
20.	Вміст ПГ Е2, ЛТ В4, Тх В2	Визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (<i>Neogen Corporation, США</i>). Е2 – ELISA Kit-404110, Тх В2 – ELISA Kit 405110, ЛТ В4 – ELISA Kit 406110. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: сироватка крові – пг /мл; гомогенат біологічної тканини – пг/мг білка.	[603]

-1-	-2-	-3-	-4-
21.	Вміст інтерлейкінів (ІЛ 1 β , 2, 4, 6, 10, 17, ФНП- α)	Визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу згідно з інструкцією виробника (<i>Neogen Corporation, США</i>). <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – пг /мл	[603]
22.	Вміст Т3 (загальний та вільний) Т4 (загальний та вільний)	Визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (<i>Human GmbH, Німеччина</i>). <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – нмоль /л (загальний), пкмоль/л (вільний)	[603]
23.	Антитіла до ТГ	Визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (<i>Roche Diagnostics, Швейцарія</i>). <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – Од/мл	[603]
24.	Ig A, M, G	Визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (<i>Human GmbH, Німеччина</i>). <i>Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання:</i> сироватка крові – мг/мл	[603]

2.3.7 Методи статистичної обробки

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel 2010. Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілка (*Shapiro-Wilk test*, $n < 50$). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (*Levene's test*). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників за різних умов експерименту проводили статистичний аналіз з використанням параметричних або непараметричних критеріїв.

При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. При ненормальному

розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна-Уїтні (*Mann-Whitney*). Зіставлення показників однієї групи при повторюваних вимірюваннях за різних умов експерименту проводили за непараметричним T-критерієм Вілкоксона (*Wilcoxon T test*).

Отримані значення порівнювали з критичними при рівні вірогідності вище 95,0 % ($p < 0,05$), вище 99,0 % ($p < 0,01$), вище 99,5 % ($p < 0,005$) та вище 99,9 % ($p < 0,001$) та робили висновок про ймовірність похибки.

Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді “ $M \pm m$ ” ($M \pm SE$), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95 % ДІ: 5 % – 95 %), де 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал (Confidence interval – CI). При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді $Me [LQ; UQ]$, де Me – медіана, $[LQ; UQ]$ – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квартиля (upper quartile – UQ). Для графічного представлення даних обрано діаграми розмаху (box-and-whiskers diagram – «шухлядові» діаграми з «вусами») [623, 624].

РОЗДІЛ 3

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ТЕРАПЕВТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА МОДЕЛІ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ У ЩУРІВ

У розділі наведено результати досліджень протизапальної та знеболюючої активності БКБЗ у порівнянні з референс-препаратом ДН на моделі АА у щурів. Протизапальну активність оцінювали за змінами об'єму набряклої кінцівки, а знеболюючу – за допомогою електричного та механічного подразнення. Окрім цього, було проведено вивчення впливу БКБЗ на гематологічні, біохімічні та імунологічні показники. Зокрема, досліджували вміст еритроцитів, лейкоцитів, ШОЕ, рівень С-РБ, активність лужної фосфатази, серомукоїду, концентрацію ейкозаноїдів (ПГ Е2, ЛТ В4, Тх В2) та рівні цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-17, ФНП-α). Проведені дослідження дозволили оцінити механізми дії БКБЗ на запальні процеси, а також їх ефективність у лікуванні запальних та аутоімунних захворювань.

3.1 Фармакологічна оцінка протизапальної та знеболюючої активності БКБЗ при експериментальному артриті

Встановлено, що на початку експерименту об'єм кінцівки у тварин був співставним у всіх групах і варіювався між $1,46 \pm 0,05$ мл (група II) та $1,61 \pm 0,07$ мл (група IV). Проведене дослідження показало, що введення ПАФ призвело до статистично вірогідного ($p=0,009$) збільшення об'єму ураженої кінцівки на 14 день експерименту у 2 рази та більше (від +100,9% до 124,5%) у всіх тварин зі змодельованим АА, відносно вихідних показників (табл. 3.1). Отримані результати узгоджувались з даними літератури [625]. У тварин з АА

без лікування об'єм ураженої кінцівки на 28 день експерименту становив $3,01 \pm 0,06$ (95 % ДІ: 2,90–3,13) мл, що статистично вірогідно ($p < 0,01$) на 106,9% перевищував вихідні показники у тварин цієї групи на «0» день.

П'ятиразове введення КЕП з 14 по 28 дні експерименту призвело до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження об'єму ушкодженої кінцівки на 25,1% відносно показників на 14 день. Середній об'єм кінцівки у щурів IV групи на 28 день становив відповідно $2,43 \pm 0,10$ (95 % ДІ: 2,22–2,63) мл, що на 19,7% ($p < 0,001$) було нижче за показники тварин контрольної групи ($3,01 \pm 0,06$) в аналогічний строк дослідження (див. табл. 3.1).

Беручи до уваги зазначені зміни у щурів контрольної групи та дані тварин, які отримували КЕП, нами проведено розрахунок ПЗА КЕП, яка на 28 день становила відповідно:

$$\text{ПЗА}_{\text{КЕП}} = \Delta V_{28 \text{ контроль}} - \Delta V_{28 \text{ КЕП}} = 106,9\% - 50,4\% = 56,5\%$$

За величиною ПЗА КЕП лише на 12,3% поступався за вказаним видом активності референс-препарату ДН, ПЗА якого становила відповідно:

$$\text{ПЗА}_{\text{ДН}} = \Delta V_{28 \text{ контроль}} - \Delta V_{28 \text{ ДН}} = 106,9\% - 38,1\% = 68,8\%$$

Отримані дані узгоджуються з даними попередніх досліджень щодо здатності КЕП посилювати ПЗА НПЗЗ за їх комбінованого нарізного введення, що може бути опосередковане сумациєю ПЗА обох препаратів [626].

На тлі введення КЕС об'єм ушкодженої кінцівки у щурів з АА на 28 день експерименту статистично вірогідно ($p < 0,01$) зменшився на 20,0% відносно показників на 14 день та становив відповідно $2,57 \pm 0,11$ (95 % ДІ: 2,35–2,80) мл, що на 63,6% перевищувало вихідні показники тварин цієї групи на «0» день ($1,57 \pm 0,10$ (95 % ДІ: 1,38–1,77) мл). Таким чином ПЗА КЕС становила: $\text{ПЗА}_{\text{КЕС}} = \Delta V_{28 \text{ контроль}} - \Delta V_{28 \text{ КЕС}} = 106,9\% - 63,6\% = 43,3\%$.

КС-МСК проявляло більш виразку ПЗА, ніж КЕС. Так, об'єм ушкодженої кінцівки на 28 добу експерименту статистично вірогідно ($p < 0,01$) зменшився на 22,0% відносно показників на 14 день (див. табл. 3.1), що на 59,6% перевищувало вихідні показники, відповідно ПЗА становила:

$$\text{ПЗА}_{\text{КС-МСК}} = \Delta V_{28 \text{ контроль}} - \Delta V_{28 \text{ КС-МСК}} = 106,9\% - 59,6\% = 47,3\%.$$

Таблиця 3.1

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на величину набряку кінцівки у щурів з АА в динаміці, мл
($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС- МСК	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₅₋₂	p ₆₋₂	p ₄₋₃	p ₅₋₃	p ₆₋₃
«0» день	1,51±0,06 (95 % ДІ: 1,40–1,63)	1,46±0,05 (95 % ДІ: 1,36–1,55)	1,50±0,11 (95 % ДІ: 1,28–1,72)	1,61±0,07 (95 % ДІ: 1,48–4,75)	1,57±0,10 (95 % ДІ: 1,38–1,77)	1,56±0,06 (95 % ДІ: 1,45–1,67)	0,5 [3,8%]	0,7 [2,9%]	0,1 [10,8%]	0,3 [7,8%]	0,2 [6,9%]	0,4 [7,6%]	0,6 [7,4%]	0,7 [3,8%]
14 день	1,57±0,06 (95 % ДІ: 1,45–1,70) p _{д0} = 0,1 [3,8%] ^{д0}	3,27±0,08 (95 % ДІ: 3,12–3,42) p _{д0} = 0,009 [124,5%] ^{д0}	3,26±0,08 (95 % ДІ: 3,10–3,42) p _{д0} = 0,009 [117,1%] ^{д0}	3,24±0,08 (95 % ДІ: 3,10–3,39) p _{д0} = 0,009 [100,9%] ^{д0}	3,21±0,07 (95 % ДІ: 3,07–3,36) p _{д0} = 0,009 [104,5%] ^{д0}	3,19±0,11 (95 % ДІ: 2,97–3,40) p _{д0} = 0,009 [104,6%] ^{д0}	< 0,001 [108,2%]	0,9 [0,4%]	0,8 [0,9%]	0,6 [1,7%]	0,5 [2,6%]	0,9 [0,4%]	0,7 [1,3%]	0,6 [2,2%]
28 день	1,60±0,06 (95 % ДІ: 1,49–1,71) p _{д0} = 0,07 [5,7%] ^{д0} p _{д14} = 0,09 [1,8%] ^{д14}	3,01±0,06 (95 % ДІ: 2,90–3,13) p _{д0} < 0,01 [106,9%] ^{д0} p _{д14} = 0,01 [7,9%] ^{д14}	2,07±0,19 (95 % ДІ: 1,70–2,44) p _{д0} = 0,01 [38,1%] ^{д0} p _{д14} = 0,01 [36,4%] ^{д14}	2,43±0,10 (95 % ДІ: 2,22–2,63) p _{д0} < 0,01 [50,4%] ^{д0} p _{д14} < 0,01 [25,1%] ^{д14}	2,57±0,11 (95 % ДІ: 2,35–2,80) p _{д0} < 0,01 [63,6%] ^{д0} p _{д14} < 0,01 [20,0%] ^{д14}	2,49±0,08 (95 % ДІ: 2,32–2,65) p _{д0} = 0,01 [59,6%] ^{д0} p _{д14} = 0,01 [22,0%] ^{д14}	< 0,001 [88,4%]	< 0,001 [31,3%]	< 0,001 [19,7%]	0,005 [14,7%]	< 0,001 [17,5%]	0,1 [17,2%]	0,04 [24,1%]	0,07 [20,0%]

Примітки.

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами д₀, д₁₄ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Дослідження знеболюючої активності БКБЗ показало, що на 14 день експерименту у щурів зі змодельованим АА відмічається статистично вірогідне ($p < 0,009$) зниження ПБЧ при механічному подразненні за Рендаллом-Селітто у 2 рази відносно вихідних показників (табл. 3.2). Так, у щурів контрольної групи на 14 день експерименту ПБЧ становив 149 ± 7 г, що на 51,9% було нижче за вихідні показники (309 ± 10 г). Зниження ПБЧ від дії механічного подразника у щурів з АА узгоджується з даними літератури про запальний компонент болю при розвитку експериментального артрити [627]. Низка досліджень показала, що запальні цитокіни (особливо інтерлейкін-6) безпосередньо стимулюють ноцицептори, а тривала активація периферичних ноцицепторів в свою чергу може активувати больові шляхи центральної нервової системи та індукувати адаптаційні зміни, що призводять до гіпералгезії [628].

Оцінка впливу п'ятиразового введення БКБЗ щурам з АА показала здатність досліджуваних препаратів знижувати ПБЧ від дії механічного подразника, що вказує на модуляцію периферичного компонента ноцицепції. Найнижчий аналгетичний потенціал на спінальному рівні виявлено у КЕС (див. табл. 3.2). Так у щурів з АА, яким вводили КЕС на 28 добу експерименту, ПБЧ статистично вірогідно ($p = 0,01$) підвищився на 38,0% від показника на 14 день експерименту та становив відповідно 197 ± 11 г, що на 14,8% ($p = 0,047$) було нижче за показники тварин, яким вводили ДН (див. табл. 3.2).

Співставною аналгетичною активністю на периферичному рівні ноцицепції володіли КЕП та КС-МСК. Встановлено, що на тлі введення КЕП на 28 добу експерименту у щурів з АА ПБЧ від дії механічного подразника зріс ($p < 0,01$) на 43,1% відносно значень на 14 день експерименту, а у щурів, яким вводили КС-МСК ПБЧ зріс ($p < 0,01$) відповідно на 42,7% (див. табл. 3.2). Варто зазначити, що введення референс-препарату ДН призвело до зростання ($p < 0,01$) на 28 добу ПБЧ при механічному подразненні кінцівки у щурів з АА на 60,4% відносно показників щурів до введення ДН.

Таблиця 3.2

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на ПБЧ при механічному подразненні за Рендаллом-Селітто у щурів з АА в динаміці, ум. од. ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС- МСК	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{5-2}	p_{6-2}	p_{4-3}	p_{5-3}	p_{6-3}
«0» день	311±7 (95 % ДІ: 298–325)	309±10 (95 % ДІ: 290–327)	303±11 (95 % ДІ: 280–325)	307±8 (95 % ДІ: 292–322)	313±7 (95 % ДІ: 300–326)	317±9 (95 % ДІ: 299–336)	0,8 [0,9%]	0,7 [1,9%]	0,9 [0,5%]	0,7 [1,4%]	0,5 [2,8%]	0,8 [1,4%]	0,5 [6,8%]	0,4 [4,7%]
14 день	313±8 (95 % ДІ: 298–328) $p_{д0} = 0,5$ [0,5%] ^{д0}	149±7 (95 % ДІ: 135–162) $p_{д0} < 0,009$ [51,9%] ^{д0}	144±11 (95 % ДІ: 123–166) $p_{д0} < 0,009$ [52,4%] ^{д0}	146±5 (95 % ДІ: 135–156) $p_{д0} < 0,009$ [52,6%] ^{д0}	143±8 (95 % ДІ: 127–159) $p_{д0} < 0,009$ [54,3%] ^{д0}	147±9 (95 % ДІ: 130–164) $p_{д0} < 0,009$ [53,6%] ^{д0}	< 0,001 [52,5%]	0,7 [2,9%]	0,8 [1,9%]	0,6 [3,8%]	0,9 [1,0%]	0,9 [1,0%]	0,9 [1,0%]	0,8 [2,0%]
28 день	306±8 (95 % ДІ: 291–320) $p_{д0} = 0,17$ [1,8%] ^{д0} $p_{д14} = 0,34$ [2,3%] ^{д14}	189±8 (95 % ДІ: 172–205) $p_{д0} < 0,01$ [38,9%] ^{д0} $p_{д14} = 0,01$ [26,9%] ^{д14}	231±11 (95 % ДІ: 210–253) $p_{д0} = 0,01$ [23,6%] ^{д0} $p_{д14} < 0,01$ [60,4%] ^{д14}	209±6 (95 % ДІ: 196–221) $p_{д0} = 0,01$ [32,1%] ^{д0} $p_{д14} < 0,01$ [43,1%] ^{д14}	197±11 (95 % ДІ: 175–219) $p_{д0} = 0,01$ [37,0%] ^{д0} $p_{д14} = 0,01$ [38,0%] ^{д14}	210±7 (95 % ДІ: 196–224) $p_{д0} = 0$ [33,8%] ^{д0} $p_{д14} < 0,01$ [42,7%] ^{д14}	< 0,001 [38,3%]	0,008 [22,8%]	< 0,001 [10,6%]	0,5 [4,5%]	0,07 [11,4%]	0,09 [9,9%]	0,047 [14,8%]	0,1 [9,3%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами $д0$, $д14$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Варто відзначити, що больова сенсibilізація може також виникати через підвищення рівня цитокінів у самій центральній нервовій системі через активацію нейроімунних шляхів. Місцеві прозапальні цитокіни в спинному мозку можуть безпосередньо збуджувати нейрони – явище, відоме як центральна сенсibilізація [628].

Центральний механізм знеболюючої активності досліджуваних БКБЗ вивчали шляхом електроімпульсного подразнення та оцінювали за вокалізацією тварин. Дослідження показали, що у щурів з АА на 14 день експерименту відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,009$) зниження ПБЧ на 54,4% відносно вихідних показників, що становило відповідно $2,9 \pm 0,25$ В (табл. 3.3). На тлі введення ДН досліджуваний показник зріс ($p < 0,01$) на 86,0% та становив відповідно $5,7 \pm 0,39$ В, що на 35,8% було нижче ($p < 0,001$) за показники інтактних щурів (див. табл. 3.3).

За аналогією до впливу на спінальний рівень ноцицепції при механічному подразненні введення КЕП призвело до найменш виразної аналгетичної дії на супраспінальному рівні. Так ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА на тлі введення КЕС зріс ($p = 0,1$) лише на 28,9% на 28 день експерименту відносно показників на 14 день, що на 33,3% залишалось нижчим за вихідні значення та становив відповідно $4,1 \pm 0,26$ В (див. табл. 3.3).

Встановлено, що на тлі введення КЕП щурам з АА відмічено статистично вірогідне ($p = 0,01$) зростання ПБЧ від електроімпульсного подразника на 44,7%, що становило $3,9 \pm 0,3$ В та $2,7 \pm 0,29$ В відповідно на 28 та 14 дні експерименту.

Особливу увагу привертає зміна ПБЧ на супраспінальному рівні при введенні КС-МСК. Дослідження показало, що зазначений показник зріс ($p = 0,01$) на 54,8% на 28 день відносно показників на 14 день експерименту, що лише на 18,8 % було нижче ($p = 0,049$) за показники щурів, яким вводили ДН в аналогічних умовах експерименту (див. табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА в динаміці, Вольт
($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щери	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС- МСК	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{5-2}	p_{6-2}	p_{4-3}	p_{5-3}	p_{6-3}
«0» день	5,8±0,32 (95 % ДІ: 5,1–6,4)	6,4±0,20 (95 % ДІ: 6,0–6,8)	6,5±0,39 (95 % ДІ: 5,7–7,3)	5,8±0,49 (95 % ДІ: 4,8–6,7)	6,2±0,26 (95 % ДІ: 5,7–6,7)	6,0±0,38 (95 % ДІ: 5,3–6,7)	0,1 [11,1%]	0,9 [1,1%]	0,2 [10,0%]	0,5 [0,6%]	0,3 [6,7%]	0,3 [11,0%]	0,6 [0,6%]	0,4 [7,7%]
14 день	6,1±0,37 (95 % ДІ: 5,3–6,8) $p_{д0} = 0,3$ [4,9%] ^{д0}	2,9±0,25 (95 % ДІ: 2,4–3,4) $p_{д0} < 0,009$ [54,4%] ^{д0}	3,1±0,20 (95 % ДІ: 2,7–3,5) $p_{д0} < 0,009$ [52,7%] ^{д0}	2,7±0,29 (95 % ДІ: 2,2–3,3) $p_{д0} < 0,009$ [53,1%] ^{д0}	3,2±0,36 (95 % ДІ: 2,5–3,9) $p_{д0} < 0,009$ [48,3%] ^{д0}	3,0±0,22 (95 % ДІ: 2,6–3,4) $p_{д0} < 0,009$ [50,0%] ^{д0}	$< 0,001$ [51,8%]	0,7 [4,9%]	0,6 [7,3%]	0,5 [9,8%]	0,8 [2,4%]	0,3 [11,6%]	0,7 [4,7%]	0,8 [2,3%]
28 день	5,8±0,32 (95 % ДІ: 5,1–6,4) $p_{д0} = 0,5$ [0%] ^{д0} $p_{д14} = 0,25$ [4,7%] ^{д14}	3,7±0,24 (95 % ДІ: 3,2–4,2) $p_{д0} < 0,01$ [42,2%] ^{д0} $p_{д14} = 0,06$ [26,8%] ^{д14}	5,7±0,39 (95 % ДІ: 4,9–6,5) $p_{д0} = 0,03$ [12,1%] ^{д0} $p_{д14} < 0,01$ [86,0%] ^{д14}	3,9±0,30 (95 % ДІ: 3,3–4,5) $p_{д0} = 0,01$ [32,1%] ^{д0} $p_{д14} = 0,01$ [44,7%] ^{д14}	4,1±0,26 (95 % ДІ: 3,6–4,7) $p_{д0} = 0,01$ [33,3%] ^{д0} $p_{д14} = 0,1$ [28,9%] ^{д14}	4,6±0,28 (95 % ДІ: 4,1–5,2) $p_{д0} = 0,01$ [22,6%] ^{д0} $p_{д14} = 0,01$ [54,8%] ^{д14}	$< 0,001$ [35,8%]	$< 0,001$ [53,8%]	$< 0,001$ [5,8%]	0,25 [11,5%]	0,028 [25,0%]	0,003 [31,3%]	0,006 [27,5%]	0,049 [18,8%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами $д0$, $д14$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

3.2 Гематологічні та біохімічні аспекти ефективності БКБЗ на моделі АА у щурів

Проведене дослідження показало, що на 28 добу експерименту у щурів з АА відмічались ознаки розвитку активного запального процесу, що підтверджувалось статистично вірогідним ($p < 0,001$) збільшенням кількості лейкоцитів на 164,3% та статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням ШОЕ на 330,0% у тварин контрольної групи (АА без лікування) відносно показників інтактних щурів. Крім того встановлено, що на тлі АА відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зменшення кількості еритроцитів на 46,3%, що становили $3,1 \pm 0,26 \times 10^{12}/\text{л}$ (табл. 3.4). За даними літератури [629] важливим супутнім захворюванням хронічного запалення є анемія, яка може бути пов'язана з порушенням регуляції активності гемопоетичних стовбурових клітин і клітин-попередників у кістковому мозку. Як відомо, гемопоетичні стовбурові клітини та клітини-попередники, включаючи еритроїдні клітини-попередники, експресують рецептори для запальних цитокінів.

Оцінка впливу досліджуваних БКБЗ на вираженість анемії хронічного запалення при АА у щурів показала найвиразнішу нормалізацію вмісту еритроцитів на тлі введення КС-МСК. Так, вказаний показник становив $5,6 \pm 0,37 \times 10^{12}/\text{л}$, що співставлялось з показниками інтактних тварин ($5,9 \pm 0,26 \times 10^{12}/\text{л}$) та на 77,3% ($p < 0,001$) перевищувало показники тварин контрольної групи ($3,1 \pm 0,26 \times 10^{12}/\text{л}$). На тлі введення кріоекстрактів теж відмічалось підвищення вмісту еритроцитів, але меншою мірою – на тлі введення КЕП вміст еритроцитів зріс на 45,5% ($p < 0,05$), а на тлі введення КЕС – зріс на 65,6% ($p < 0,001$) відносно показників нелікованих щурів з АА (див. табл. 3.4).

Оцінка інтенсивності запального процесу на тлі застосування досліджуваних БКБЗ показала, що найвиразнішу протизапальну активність виявляє введення КС-МСК – вміст лейкоцитів становив $9,9 \pm 0,63 \times 10^9/\text{л}$, а ШОЕ становила $5,7 \pm 0,64$ мм/год, що на 53,4% та 69,0% відповідно було нижче за аналогічні показники у тварин контрольної групи.

Таблиця 3.4

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на гематологічні показники щурів
з АА на 28 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікув.)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	5,9 $\pm$ 0,26 (95 % ДІ: 5,3–6,4)	3,1 $\pm$ 0,26 (95 % ДІ: 2,6–3,7) $p_1 < 0,001$ [46,3%]	3,4 $\pm$ 0,37 (95 % ДІ: 2,7–4,2) $p_2 = 0,5$ [9,1%]	4,6 $\pm$ 0,48 (95 % ДІ: 3,6–5,5) $p_2 < 0,05$ [45,5%] $p_3 = 0,1$ [33,3%]	5,1 $\pm$ 0,26 (95 % ДІ: 4,6–5,7) $p_2 < 0,001$ [63,6%] $p_3 < 0,01$ [71,2%]	5,6 $\pm$ 0,37 (95 % ДІ: 4,8–6,3) $p_2 < 0,001$ [77,3%] $p_3 < 0,01$ [62,5%]
Лейкоцити, $\times 10^9/л$	8,0 $\pm$ 0,44 (95 % ДІ: 7,1–8,9)	21,1 $\pm$ 0,86 (95 % ДІ: 19,5–22,8) $p_1 < 0,001$ [164,3%]	12,4 $\pm$ 0,84 (95 % ДІ: 10,8–14,1) $p_2 < 0,001$ [41,2%]	12,7 $\pm$ 0,89 (95 % ДІ: 10,8–14,1) $p_2 < 0,001$ [39,9%] $p_3 = 0,8$ [2,3%]	14,3 $\pm$ 0,68 (95 % ДІ: 13,0–15,6) $p_2 < 0,001$ [32,4%] $p_3 = 0,1$ [14,9%]	9,9 $\pm$ 0,63 (95 % ДІ: 8,6–11,1) $p_2 < 0,001$ [53,4%] $p_3 < 0,05$ [20,7%]
Швидкість осідання еритроцитів, мм/год.	4,3 $\pm$ 0,42 (95 % ДІ: 3,5–5,1)	18,4 $\pm$ 1,13 (95 % ДІ: 16,2–20,6) $p_1 < 0,001$ [330,0%]	10,3 $\pm$ 0,78 (95 % ДІ: 8,8–11,8) $p_2 < 0,001$ [44,2%]	9,3 $\pm$ 0,57 (95 % ДІ: 8,2–10,4) $p_2 < 0,001$ [49,6%] $p_3 = 0,3$ [9,7%]	8,7 $\pm$ 0,97 (95 % ДІ: 6,8–10,6) $p_2 < 0,001$ [52,7%] $p_3 < 0,2$ [15,3%]	5,7 $\pm$ 0,64 (95 % ДІ: 4,5–7,0) $p_2 < 0,001$ [69,0%] $p_3 < 0,001$ [44,4%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Порівняльна оцінка зміни гематологічних показників показала, що за величиною зменшення вмісту лейкоцитів у щурів з АА на 28 день експерименту досліджувані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (53,4%) > КЕП (39,9%) > КЕС (32,4%). За величиною зменшення ШОЕ на 28 день експерименту відносно показників щурів контрольної групи, безклітинні кріоконсервовані засоби, які вводили щурам з АА, можна розташувати у послідовності: КС-МСК (69,0%) > КЕС (52,7%) > КЕП (19,6%).

Оцінка зміни з боку біохімічних показників показала, що на 28 день експерименту у щурів з АА відмічається статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання вмісту С-РБ у 4,4 рази відносно показників інтактних щурів (табл. 3.5). За даними *Pope J.E. та співавт. (2021 р.)* [630] С-РБ є не тільки маркером системного запалення при РА, а є також імунним регулятором, який відіграє важливу роль у запальних шляхах, пов'язаних з РА, і сприяє атерогенним ефектам. Супутні захворювання, пов'язані із системним запаленням, є поширеними при РА, а С-РБ асоціюється з ризиком серцево-судинних захворювань, діабету, метаболічного синдрому, легеневих захворювань і депресії. Крім того у щурів з АА відмічалось підвищення активності ЛФ ($p < 0,001$) на 76,5% та зростання вмісту серомукоїду ($p < 0,035$) на 97,1% відносно показників інтактних щурів (див. табл. 3.5).

На тлі застосування референс-препарату ДН у щурів з АА на 28 день експерименту відмічено статистично вірогідне зниження вмісту С-РБ ($p < 0,01$) на 45,5%, зниження активності ЛФ ($p < 0,001$) на 26,2% та зниження вмісту серомукоїду на 21,7% ($p < 0,3$) відносно показників щурів контрольної групи (АА без лікування).

Серед досліджуваних БКБЗ найвиразніше пригнічення запального процесу на 28 добу експерименту на моделі АА у щурів відмічалось на тлі застосування КС-МСК – рівень С-РБ знизився ($p < 0,001$) на 54,5% відносно нелікованих щурів з АА, що на 16,7% ($p < 0,1$) було нижче за аналогічний показник щурів з АА, яким вводили ДН (див. табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на біохімічні показники щурів
з АА на 28 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікув.)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
С-реактивний білок, мг/л	5,0 [5,0; 7,0]	22,0 [22,0; 25,5] $p_1 < 0,001$ [340,0%]	12,0 [10,5; 15,5] $p_2 < 0,01$ [45,5%]	16,0 [14,0; 17,5] $p_2 < 0,01$ [27,3%] $p_3 < 0,1$ [33,3%]	18,0 [16,5; 20,5] $p_2 < 0,01$ [18,2%] $p_3 < 0,05$ [50,5%]	10,0 [8,5; 13,5] $p_2 < 0,001$ [54,5%] $p_3 < 0,1$ [16,7%]
Лужна фосфатаза, мкмоль / (год×л)	231,4±6,3 (95 % ДІ: 219,0–243,8)	408,6±10,8 (95 % ДІ: 387,4–429,7) $p_1 < 0,001$ [76,5%]	301,4±8,3 (95 % ДІ: 285,2–317,7) $p_2 < 0,001$ [26,2%]	282,9±9,9 (95 % ДІ: 263,4–302,3) $p_2 < 0,001$ [30,8%] $p_3 < 0,18$ [6,2%]	274,3±12,9 (95 % ДІ: 249,0–299,5) $p_2 < 0,001$ [32,9%] $p_3 < 0,11$ [9,0%]	251,4±16,1 (95 % ДІ: 219,9–283,0) $p_2 < 0,001$ [38,5%] $p_3 < 0,02$ [16,6%]
Серомукоїд, ммоль/л	0,17±0,03 (95 % ДІ: 0,12–0,23)	0,33±0,06 (95 % ДІ: 0,22–0,44) $p_1 < 0,035$ [97,1%]	0,26±0,04 (95 % ДІ: 0,18–0,33) $p_2 < 0,3$ [21,7%]	0,29±0,05 (95 % ДІ: 0,20–0,38) $p_2 < 0,03$ [13,0%] $p_3 < 0,6$ [11,1%]	0,23±0,05 (95 % ДІ: 0,13–0,33) $p_2 < 0,2$ [30,4%] $p_3 < 0,6$ [11,1%]	0,17±0,03 (95 % ДІ: 0,12–0,23) $p_2 < 0,035$ [47,8%] $p_3 < 0,09$ [33,3%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Оцінка інтенсивності запального процесу у щурів з АА на 28 день експерименту у щурів, яким вводили КС-МСК також показала, що у тварин цієї групи відмічено статистично вірогідне зниження на 38,5% активності ЛФ та зниження ($p<0,035$) вмісту серомукоїду на 47,8% відносно показників нелікованих щурів з АА. Варто зазначити, що зниження вказаних показників перевищувало аналогічні зміни на тлі застосування референс-препарату ДН, відповідно активність ЛФ була нижчою на 16,6% ($p<0,02$), а рівень серомукоїду був нижчим на 33,3% ($p<0,09$) відносно показників тварин з АА, яким вводили ДН (див. табл. 3.5).

Досліджувані кріоекстракти поступались КС-МСК за здатністю пригнічувати інтенсивність запального процесу у щурів з АА за даними досліджуваних біохімічних показників. За здатністю зменшувати вміст С-РБ КЕС (18,2%, $p<0,01$) поступався КЕП (27,3%, $p<0,01$), що вказувало на більш виразні протизапальні властивості КЕП. За здатністю пригнічувати активність ЛФ у щурів з АА на 28 день експерименту досліджувані кріоекстракти проявляли співставну активність – на рівні 30,8–32,9% ($p<0,001$), що незначно (на 6,2–9,0%) перевищувало активність ДН (див. табл. 3.5).

3.3 Аналіз змін рівнів ейкозаноїдів на моделі АА при застосуванні БКБЗ

Встановлено, що на 28 добу експерименту, у щурів з АА відмічалось значне статистично вірогідне зростання рівня усіх досліджуваних ейкозаноїдів у сироватці периферичної крові. Так, у нелікованих тварин з АА на 28 день рівень ПГЕ2 був вищим ($p<0,01$) на 34,7%, рівень ТxB2 був вищим ($p<0,001$) на 72,4%, а рівень ЛТВ4 був вищим ($p<0,001$) на 74,7% за показники інтактних тварин (табл. 3.6). Як відомо, ПГЕ2 є основним ПГ, який синтезується зокрема хондроцитами та синовіальними фібробластами, а його біосинтез може бути посилений прозапальними цитокінами [631].

Таблиця 3.6

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у сироватці крові щурів з АА на 28 день експерименту, пг/мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Простагландин E2, пг/мл	840 [785; 890]	1210 [915; 1285] $p_1 < 0,01$ [34,7%]	980 [965; 1050] $p_2 = 0,4$ [19,0%]	990 [820; 1185] $p_2 = 0,2$ [18,2%] $p_3 = 0,5$ [1,0%]	1000 [940; 1265] $p_2 = 0,5$ [17,4%] $p_3 = 0,4$ [2,0%]	910 [880; 1005] $p_2 < 0,05$ [24,8%] $p_3 < 0,05$ [7,1%]
Тромбоксан B2, пг/мл	249±17 (95 % ДІ: 215–282)	429±32 (95 % ДІ: 367–491) $p_1 < 0,001$ [72,4%]	279±13 (95 % ДІ: 253–304) $p_2 < 0,001$ [35,0%]	301±21 (95 % ДІ: 260–343) $p_2 < 0,01$ [29,7%] $p_3 = 0,4$ [8,2%]	341±22 (95 % ДІ: 299–384) $p_2 < 0,05$ [20,3%] $p_3 < 0,05$ [22,6%]	299±15 (95 % ДІ: 270–327) $p_2 < 0,01$ [30,3%] $p_3 = 0,3$ [7,2%]
Лейкотрієн B4, пг/мл	243±17 (95 % ДІ: 209–277)	424±19 (95 % ДІ: 387–461) $p_1 < 0,001$ [74,7%]	349±20 (95 % ДІ: 309–388) $p_2 = 0,018$ [17,8%]	371±19 (95 % ДІ: 334–409) $p_2 = 0,018$ [12,5%] $p_3 = 0,4$ [6,6%]	406±32 (95 % ДІ: 344–468) $p_2 = 0,6$ [4,4%] $p_3 = 0,2$ [16,4%]	316±29 (95 % ДІ: 258–373) $p_2 = 0,01$ [25,6%] $p_3 = 0,4$ [9,4%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Ferrante E. та співавт. встановили, що біосинтез ТхА2, який контролювали за допомогою аналізу рівня ТхВ2 – стабільного продукту неферментативної гідратації ТхА2, у пацієнтів з РА був значно вищий, ніж у здорових добровольців [632]. За даними [633] ЛТВ4 відіграє важливу роль у індукції болю та ушкодженні кісток при РА, т також призводить до посиленого вивільнення прозапальних цитокінів.

На тлі застосування БКБЗ, як і референс-препарату ДН, відмічалось зниження рівня всіх досліджуваних ейкозаноїдів. Найвиразніше зниження рівня ПГЕ2 показано на тлі застосування КС-МСК – вказаний показник статистично вірогідно ($p < 0,05$) був нижчим на 24,8% відносно показників тварин контрольної групи та 7,1% був нижчим за показники тварин, яким вводили ДН (див. табл. 3.6). На тлі застосування КЕС та КЕП рівень ПГЕ2 мав тенденцію до зниження відносно показників щурів з АА без лікування, проте ці зміни не досягли рівня статистичної значущості.

Серед досліджуваних БКБЗ найвиразніший вплив на рівень ТхВ2 встановлено на тлі введення КС-МСК. У щурів, які отримували похідне культивування МСК, рівень ТхВ2 статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижчим на 30,3% відносно нелікованих тварин з АА на 28 день експерименту, що лише на 7,2% було нижчим за показники щурів з АА, які отримували ДН (див. табл. 3.6). Зміни з боку рівня ЛТВ4 у сироватці периферичної крові щурів з АА продемонстрували, що найвиразніше зниження вказаного лейкотрієну відмічалось на тлі застосування КС-МСК (25,6%).

3.4 Зміни цитокінового профілю під впливом БКБЗ при АА у щурів

Проведене дослідження показало, що на 28 день експерименту у нелікованих щурів з АА (контрольна група) відмічалось зростання вмісту прозапальних цитокінів у сироватці периферичної крові. Так, вміст ІЛ-1 β статистично вірогідно зріс ($p < 0,001$) у 2,4 рази, вміст ІЛ-17 зріс ($p < 0,001$) у

2,2 рази, а вміст ФНП- α зріс ($p < 0,001$) у 3,0 рази відносно показників інтактних щурів у аналогічні строки дослідження (табл. 3.7).

Встановлені зміни у профілі ІЛ-1 β , ІЛ-17 та ФНП- α узгоджуються з даними літератури [634] про концентраційні зміни у низці циркулюючих цитокінів, які з певною послідовністю спостерігалися до появи симптомів у тих, у кого згодом розвивається РА, порівняно зі здоровими людьми. До них належать, зокрема, ФНП, ІЛ-6, ІЛ-1 β та/або ІЛ-1, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (ГМ-КСФ), а також ІЛ-4, ІЛ-12, ІЛ-17 та ін. (рис. 3.1) [634].

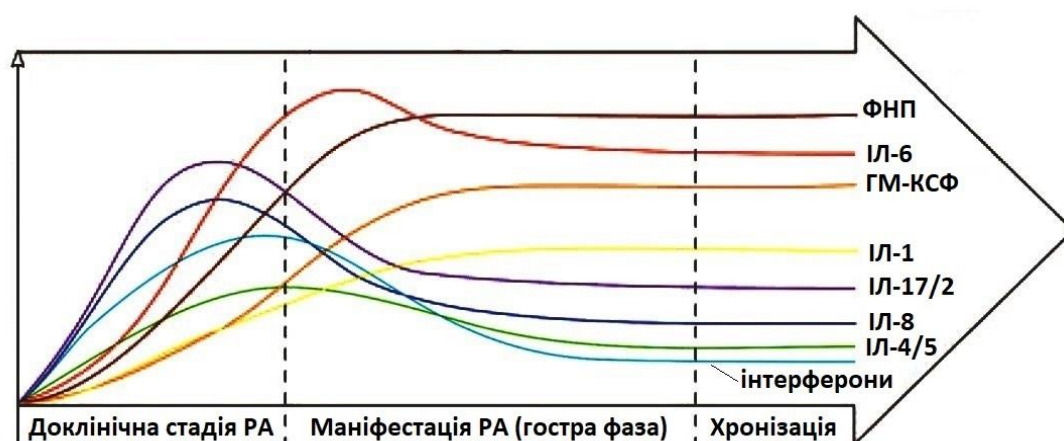


Рис. 3.1. Динаміка вмісту циркулюючих цитокінів при розвитку ревматоїдного артриту (модифіковано за [634])

На тлі застосування референс-препарату ДН відмічено статистично вірогідне зниження ($p < 0,001$) на 49,4% вмісту ІЛ-1 β та ФНП- β на 31,0% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 3.7).

ІЛ-1, як відомо, є головним цитокіном локального та системного запалення. ІЛ-1 β є продуктом моноцитів крові, тканинних макрофагів та дендритних клітин. Етапом, що обмежує швидкість вироблення ІЛ-1 β , є транскрипція, але мРНК ІЛ-1 β вимагає додаткового сигналу для синтезу. Стимулом може бути мікробний продукт, або цитокіни, такі як ФНП- α , ІЛ-18, ІЛ-1 α , які самі індукують ІЛ-1 β . Фактично, індукція ІЛ-1 сама по собі є частиною механізму «аутозапалення» [635].

Таблиця 3.7

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст прозапальних цитокінів
у сироватці крові щурів з АА на 28 день експерименту, пг/мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікув.)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Інтерлейкін 1 β , пг/мл	35 [30; 34]	83 [80; 89] $p_1 < 0,001$ [137,1%]	42 [35; 47] $p_2 < 0,001$ [49,4%]	74 [60; 87] $p_2 = 0,1$ [10,8%] $p_3 < 0,01$ [76,2%]	48 [38; 54] $p_2 < 0,001$ [42,2%] $p_3 = 0,2$ [14,3%]	55 [42; 60] $p_2 < 0,001$ [31,0 %] $p_3 = 0,1$ [25,7 %]
Інтерлейкін 17, пг/мл	20,9 $\pm$ 2,1 (95 % ДІ: 16,8–24,9)	45,4 $\pm$ 2,3 (95 % ДІ: 41,0–49,9) $p_1 < 0,001$ [117,8%]	41,1 $\pm$ 3,2 (95 % ДІ: 34,9–47,4) $p_2 = 0,3$ [9,4%]	32,4 $\pm$ 2,9 (95 % ДІ: 26,7–38,1) $p_2 < 0,01$ [28,6%] $p_3 = 0,1$ [21,2%]	50,9 $\pm$ 1,9 (95 % ДІ: 47,2–54,5) $p_2 = 0,1$ [11,9%] $p_3 < 0,05$ [23,6%]	38,9 $\pm$ 3,5 (95 % ДІ: 32,0–45,7) $p_2 = 0,1$ [14,5%] $p_3 = 0,6$ [5,6%]
Фактор некрозу пухлин α , пг/мл	45,4 $\pm$ 4,1 (95 % ДІ: 37,5–53,4)	136,7 $\pm$ 5,8 (95 % ДІ: 125,4–148,0) $p_1 < 0,001$ [200,9%]	94,3 $\pm$ 6,0 (95 % ДІ: 82,6–106,0) $p_2 < 0,001$ [31,0%]	79,7 $\pm$ 4,4 (95 % ДІ: 71,1–88,4) $p_2 < 0,001$ [41,7%] $p_3 = 0,07$ [15,5%]	120,9 $\pm$ 6,1 (95 % ДІ: 108,8–132,9) $p_2 = 0,08$ [11,6%] $p_3 = 0,009$ [28,2%]	63,6 $\pm$ 3,0 (95 % ДІ: 57,8–69,4) $p_2 < 0,001$ [53,5%] $p_3 < 0,001$ [32,6%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

ФНП, в свою чергу, теж відіграє життєво важливу роль у типовій імунній відповіді через регуляцію низки шляхів, що охоплюють запальну реакцію за участю вродженого імунітету, а також клітинну активацію з подальшою проліферацією та запрограмованою загибеллю чи некрозом клітин. Як і можна було очікувати з таким широким спектром клітинних ефектів і складними сигнальними шляхами, ФНП відіграє важливу роль у розвитку цілої низки хвороб, зокрема при РА, анкілозуючому спондиліті, хворобі Крона та ін. [636].

Таким чином, здатність ДН неспецифічно пригнічувати запалення цілком узгоджується з отриманим нами даними про зменшення концентрації ІЛ-1 β та ФНП- α .

Застосування БКБЗ за аналогічним до ДН режимом введення у щурів з АА призвело до зниження вмісту досліджуваних прозапальних цитокінів, що узгоджувалось з встановленими раніше протизапальними властивостями КЕП, КЕС та КС-МСК.

Проведені експериментальні дослідження показали, що найвиразніше зменшення вмісту ІЛ-1 β відмічено на тлі застосування КЕС – рівень вказаного цитокіну становив 48 пг/мл, що на 42,2% ($p < 0,001$) було нижче за показники щурів з АА без лікування, у яких досліджуваний показник становив 83 пг/мл (див. табл. 3.7). Варто зазначити, що за здатністю знижувати вміст ІЛ-1 β у щурів з АА КЕС поступався за ефективністю ДН – на тлі введення останнього вміст вказаного ІЛ був нижче на 14,3% ($p = 0,2$). Загалом, за здатністю знижувати вміст циркулюючого ІЛ-1 β на моделі АА досліджувані препарати можна розташувати у такій послідовності (за % відносно показників нелікованих тварин з АА): ДН (49,9%; $p < 0,001$) > КЕС (42,2%; $p < 0,001$) > КС-МСК (31,0%; $p < 0,001$) > КЕП (10,8%; $p = 0,1$).

Привертає увагу, що виявлене зниження ІЛ-1 β на моделі АА у щурів різнилось з попередніми даними про величину протизапальної активності БКБЗ. Так, за величиною протизапальної активності при експериментальному РА досліджувані БКБЗ були розташовані у такій послідовності: КЕП (ПЗА=56,5%) > КС-МСК (ПЗА=47,3%) > КЕС (ПЗА=43,3%). Такі розбіжності

дозволяють нам зробити висновок, що досліджувані нами БКБЗ мають різну виразність впливу на прозапальні цитокіни, що є одним з механізмів їх протизапальної активності.

Аналізуючи дані табл. 3.7 можна дійти висновку, що найбільше зниження вмісту ІЛ-17 відмічалось на тлі застосування КЕП – рівень вказаного цитокіну був на 28,6% нижче ($p < 0,01$) за показники нелікованих тварин та становив $32,4 \pm 2,9$ пг/мл. Як відомо, ІЛ-17 бере участь у розвитку як доклінічної фази РА, так і хронічного РА, сприяючи активації фібробластоподібних синовіоцитів, остеокластогенезу, рекрутуванню та активації нейтрофілів, макрофагів та В-клітин [637]. Було показано, що синергізм між ІЛ-17 та ФНП- α активує вироблення прозапальних медіаторів, таких як ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, та матриксних металопротеїназ, сприяючи прогресуванню раннього запалення до хронічного артриту [638, 639].

Також нами встановлено, що за здатністю впливати на вміст циркулюючого ФНП- α найвиразніші зміни відмічено на тлі застосування КС-МСК (див. табл. 3.7). Показано, що на тлі введення КС-МСК рівень ФНП- α статистично вірогідно ($p < 0,001$) був нижчим на 53,5% за показники тварин контрольної групи та становив $63,6 \pm 3,0$ пг/мл.

Крім того, встановлено, що на тлі розвитку АА у щурів на 28 день експерименту відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання вмісту ІЛ-4 на 94,9% та зростання рівня ІЛ-10 на 150,7% відносно показників інтактних щурів. Обидва вказаних цитокіни належать до групи з переважно протизапальною дією. Крім того, встановлено зростання рівня ІЛ-2 на 233,3% ($p < 0,001$) та підвищення рівня ІЛ-6 на 167,7% ($p < 0,001$) відносно показників інтактних щурів (табл. 3.8).

Зростання протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10 узгоджується з даними літературних джерел [640] та в світлі попередніх досліджень вказує на непропорційне зростання прозапальних (ІЛ-1 β та ІЛ-17) та досліджуваних протизапальних цитокінів у сироватці крові щурів з АА.

Таблиця 3.8

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст протизапальних цитокінів
у сироватці крові щурів з АА на 28 день експерименту, пг/мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікув.)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Інтерлейкін 4, пг/мл	8,4±0,8 (95 % ДІ: 6,9–10,0)	16,4±0,9 (95 % ДІ: 14,7–18,1) $p_1 < 0,001$ [94,9%]	9,6±0,5 (95 % ДІ: 5,8–10,6) $p_2 < 0,001$ [41,7%]	11,3±1,1 (95 % ДІ: 9,0–13,5) $p_2 = 0,004$ [31,3%] $p_3 = 0,2$ [17,9%]	14,6±1,3 (95 % ДІ: 12,0–17,2) $p_2 = 0,3$ [11,3%] $p_3 = 0,004$ [%]	16,4±1,6 (95 % ДІ: 13,3–19,6) $p_2 = 1,0$ [0%] $p_3 = 0,002$ [71,6%]
Інтерлейкін 10, пг/мл	19,7±1,8 (95 % ДІ: 16,1–23,3)	49,4±1,6 (95 % ДІ: 46,2–52,7) $p_1 < 0,001$ [150,7%]	31,1±1,3 (95 % ДІ: 28,6–33,7) $p_2 < 0,001$ [37,0%]	43,4±2,4 (95 % ДІ: 38,8–48,1) $p_2 = 0,06$ [12,1%] $p_3 < 0,001$ [39,4%]	39,3±1,9 (95 % ДІ: 35,6–43,0) $p_2 = 0,002$ [20,5%] $p_3 = 0,004$ [26,1%]	45,4±2,4 (95 % ДІ: 41,4–49,5) $p_2 = 0,1$ [9,5%] $p_3 < 0,001$ [45,9%]
Інтерлейкін 2, пг/мл	60 [53; 63]	200 [195; 238] $p_1 < 0,001$ [233,3%]	190 [125; 200] $p_2 = 0,037$ [5,0%]	200 [180; 225] $p_2 = 0,2$ [0%] $p_3 = 0,1$ [5,3%]	190 [180; 205] $p_2 = 0,1$ [5,0%] $p_3 = 0,2$ [0%]	180 [155; 190] $p_2 < 0,01$ [10,0%] $p_3 = 0,5$ [5,3%]
Інтерлейкін 6, пг/мл	54,4±2,9 (95 % ДІ: 48,8–60,0)	145,7±5,1 (95 % ДІ: 135,6–155,8) $p_1 < 0,001$ [167,7%]	61,6±4,4 (95 % ДІ: 52,9–70,2) $p_2 < 0,001$ [57,7%]	120,0±8,1 (95 % ДІ: 104,1–135,9) $p_2 = 0,02$ [17,6%] $p_3 < 0,001$ [94,9%]	127,7±7,1 (95 % ДІ: 113,8–141,6) $p_2 = 0,06$ [12,4%] $p_3 < 0,001$ [107,4%]	114,4±6,4 (95 % ДІ: 101,9–127,0) $p_2 = 0,003$ [21,5%] $p_3 < 0,001$ [85,8%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами $1, 2, 3$ вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

На тлі застосування референс-препарату ДН виявлене виразне статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження вмісту протизапального ІЛ-4 на 41,7% відносно показників щурів з АА без лікування (див. табл. 3.8). Привертає увагу, що на тлі застосування досліджуваних БКБЗ відмічене менш виразне зниження зазначеного цитокіну. Так, на тлі введення КС-МСК рівень ІЛ-4 у щурів з АА залишався незмінним, а на тлі введення КЕС – рівень ІЛ-4 мав тенденцію до зниження ($p = 0,3$) лише на 11,3% відносно показників нелікованих тварин. Найвиразніше рівень ІЛ-4 знизився на тлі введення КЕП – на 31,3% ($p = 0,004$) відносно показників щурів контрольної групи та становив $11,3 \pm 1,1$ пг/мл (див. табл. 3.8).

Оцінка рівня протизапального ІЛ-10 показала що застосування всіх БКБЗ мало місце, за аналогією до впливу на рівень ІЛ-4, менш виразне зниження ІЛ-10 на тлі введення біологічних препаратів, ніж на тлі застосування референс-препарату ДН. Проте, на відміну від зміни з боку ІЛ-4, рівень якого у щурів з АА найвиразніше знизився на тлі введення КС-МСК, встановлено, що рівень ІЛ-10 найвиразніше статистично вірогідно ($p = 0,002$) знизився на тлі введення КЕС – на 20,5% відносно показників нелікованих тварин та становив $39,3 \pm 1,9$ пг/мл, що на 26,1% ($p = 0,004$) перевищувало показники групи щурів, яким вводили референс-препарат ДН (див. табл. 3.8). Слід зазначити, що введення ДН призвело до найбільшого зниження вмісту ІЛ-10 у щурів з АА. Зазначений цитокін статистично вірогідно ($p < 0,01$) знизився на 37,0% відносно рівня у нелікованих тварин. На тлі введення КС-МСК та КЕП шурам з АА рівень ІЛ-10 мав тенденцію до зниження ($p > 0,05$) відповідно на 9,5% та 12,1% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 3.8).

Дослідження впливу БКБЗ на рівень регуляторних цитокінів показало, що введення кріоекстрактів не призводило до значної зміни вмісту ІЛ-2 ($p > 0,05$), в той час як застосування КС-МСК у щурів з АА призвело до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження рівня ІЛ-2 на 10,0%, що в 2 рази

перевищувало аналогічні зміни на тлі введення референс-препарату ДН (див. табл. 3.8).

В той же час встановлено, що за здатністю впливати на вміст ІЛ-6 всі досліджувані БКБЗ поступались за активністю реферанс-препарату ДН. Так, на тлі введення КС-МСК рівень ІЛ-6 знизився ($p=0,003$) на 21,5%, на тлі введення КЕП – знизився ($p=0,02$) на 17,6%, а на тлі введення КЕС – мав тенденцію ($p=0,06$) до зниження на 12,4% відносно показників нелікованих щурів з АА. В той же час на тлі введення ДН у щурів з АА рівень ІЛ-6 статистично вірогідно ($p<0,001$) знизився на 57,7% відносно рівня нелікованих тварин (див. табл. 3.8).

Висновки до розділу 3

1. Досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби володіють протизапальною активністю на моделі ад'ювантного артриту у щурів, на що вказувало зменшення об'єму ушкодженої кінцівки на 28 день експерименту відносно показників на 14 день відповідно на 25,1% при застосуванні КЕП, на 20,0% при застосуванні КЕС та на 22,0% при застосуванні КС-МСК. За величиною протизапальної активності при експериментальному ревматоїдному артриті досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності: КЕП (ПЗА=56,5%) > КС-МСК (ПЗА=47,3%) > КЕС (ПЗА=43,3%)
2. Встановлено, що всі досліджувані БКБЗ володіють власною аналгетичною активністю як на спінальному, так і на супраспінальному рівнях ноцицепції, проте жоден з них не перевищував за виразністю вказаної активності референс-препарат ДН. На спінальному рівні ноцицепції КЕП та КС-МСК проявляли співставну аналгетичну активність, яка становила 43,1% та 42,7% відповідно. На супраспінальному рівні ноцицепції найвиразнішу аналгетичну активність виявлено у КС-МСК, яка становила 54,8%,

що лише на 18,8 % було нижче ($p=0,049$) за показники щурів, яким вводили ДН.

3. На тлі розвитку АА у щурів відмічається статистично вірогідне ($p<0,001$) зниження вмісту еритроцитів та підвищення вмісту лейкоцитів та ШОЕ на 164,3% та 330,0% відповідно відносно показників щурів контрольної групи. За величиною зменшення вмісту лейкоцитів у щурів з АА на 28 день експерименту досліджувані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (53,4%) > КЕП (39,9%) > КЕС (32,4%). За величиною зменшення ШОЕ на 28 день експерименту відносно показників щурів контрольної групи безклітинні кріоконсервовані засоби, які вводили щурам з АА, можна розташувати у послідовності: КС-МСК (69,0%) > КЕС (52,7%) > КЕП (19,6%). Встановлено здатність досліджуваних безклітинних біологічних засобів пригнічувати активність запального процесу на моделі АА у щурів за даними біохімічних досліджень. За виразністю протизапальної активності (за зниженням рівня С-РБ), досліджувані засоби вірогідно ($p<0,01$) можна розташувати в такій послідовності: КС-МСК (54,5%) > КЕП (27,3%) > КЕС (18,2%).
4. Розвиток АА у щурів супроводжувався зростанням рівня ПГЕ2 на 34,7% ($p<0,01$), ТхВ2 на 72,4% ($p<0,001$) та ЛТВ4 на 74,7% ($p<0,001$) відносно показників інтактних тварин, що підтверджувало імунозапальний характер змодельованої патології. Застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів призвело до зниження рівня досліджуваних ейкозаноїдів у сироватці крові щурів з АА на 28 день експерименту. Найвиразніші зміни відмічено на тлі введення КС-МСК – рівень ПГЕ2 знизився на 24,8% ($p<0,05$), ТхВ2 на 30,3% ($p<0,01$) та ЛТВ4 на 25,6% ($p<0,01$) відносно показників щурів з АА без лікування.

5. Встановлено, що у щурів з АА відмічалось зростання вмісту прозапальних цитокінів: вміст ІЛ-1 β статистично вірогідно зріс ($p < 0,001$) у 2,4 рази, вміст ІЛ-17 зріс ($p < 0,001$) у 2,2 рази, а вміст ФНП- α зріс ($p < 0,001$) у 3,0 рази відносно показників інтактних щурів у аналогічні строки дослідження. За здатністю знижувати вміст циркулюючого ІЛ-1 β на моделі АА досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності (за % відносно показників нелікованих тварин з АА): КЕС (42,2%; $p < 0,001$) > КС-МСК (31,0%; $p < 0,001$) > КЕП (10,8%; $p = 0,1$). Співставлення раніше отриманих даних про протизапальну активність досліджуваних БКБЗ та результатів дослідження вмісту прозапальних цитокінів у щурів на тлі АА дає можливість зробити висновок, що одним з провідних механізмів протизапальної активності КЕП виступає модуляція вмісту ІЛ-17, зміна концентрації ФНП- α ймовірно відіграє провідну роль у протизапальній активності КС-МСК, а протизапальна дія КЕС вірогідно опосередкована впливом останнього на вміст ІЛ-1 β .
6. Встановлено, що на тлі розвитку АА у щурів на 28 день експерименту відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання вмісту протизапальних цитокінів – ІЛ-4 на 94,9% та ІЛ-10 на 150,7%, а також підвищення рівня регуляторних цитокінів – ІЛ-2 на 233,3% ($p < 0,001$) та ІЛ-6 на 167,7% ($p < 0,001$) відносно показників інтактних щурів. Введення досліджуваних кріоекстрактів мало виразний вплив на рівень протизапальних цитокінів у щурів з АА. Так, на тлі введення КЕП рівень ІЛ-4 знизився ($p = 0,004$) на 31,3%, а на тлі введення КЕС – рівень ІЛ-10 знизився ($p = 0,02$) на 20,5% відносно показників щурів з АА без лікування. Найвиразніший вплив на рівень регуляторних цитокінів встановлено на тлі застосування КС-МСК при АА у щурів. Так рівень ІЛ-6 знизився ($p = 0,003$) на 21,5% відносно показників нелікованих тварин з АА.

Основні положення цього розділу викладено у 13 публікаціях автора [36, 39, 44, 52, 53, 54, 56, 68, 70, 72, 73, 75, 87].

РОЗДІЛ 4

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, ЕКСТРАКТУ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

У розділі представлені результати досліджень нейропротективної дії КЕП, КЕС та КС-МСК у порівнянні з референс-препаратом МП на моделі експериментального алергічного енцефаломієліту у щурів. Проведено оцінку неврологічного дефіциту (м'язова сила, рухова, дослідницька та емоційна активність) у динаміці АЕМ. Встановлено, що застосування КС-МСК сприяло збереженню м'язової сили, нормалізації емоційної активності та відновленню рухової і дослідницької активності, перевищуючи ефективність МП. Крім того, КС-МСК знижував рівень лактату та покращував енергетичні процеси в головному мозку, що підтверджує його високий нейропротективний потенціал у лікуванні нейродегенеративних аутоімунних розладів.

4.1 Динаміка неврологічного дефіциту при змодельованому еквіваленті розсіяного склерозу на тлі застосування БКБЗ

Оцінка розвитку неврологічного дефіциту у щурів зі змодельованим АЕМ у динаміці показала, що на 12 день експерименту у тварин контрольної групи (АЕМ без лікування) відмічалось статистично вірогідне ($p=0,009$) зниження м'язового тону на 73,8% (табл. 4.1) відносно вихідних показників. На 21 день експерименту у щурів з АЕМ без лікування відмічено подальше зниження м'язового тону. Так, м'язовий тонус у щурів з АЕМ зменшився у 4,3 рази ($p<0,01$) відносно показників на 12 день (див. табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та МП на м'язовий тонус у щурів з АЕМ у динаміці, сек.
($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щури	Контроль (АЕМ без лікування)	АЕМ + МП	АЕМ + КЕП	АЕМ + КЕС	АЕМ + КС- МСК	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{5-2}	p_{6-2}	p_{4-3}	p_{5-3}	p_{6-3}
«0» день	18,9±0,3 (95 % ДІ: 18,2–19,5)	18,0±0,6 (95 % ДІ: 16,8–19,2)	20,6±0,6 (95 % ДІ: 19,4–21,8)	18,1±0,6 (95 % ДІ: 17,0–19,3)	18,1±0,7 (95 % ДІ: 16,7–19,6)	18,4±0,8 (95 % ДІ: 16,8–20,1)	0,2 [4,5%]	< 0,05 [14,3%]	0,9 [0,8%]	0,9 [0,8%]	0,7 [2,4%]	< 0,01 [11,8%]	< 0,01 [13,8%]	0,1 [10,4%]
12 день	18,9±0,3 (95 % ДІ: 18,3–19,4) $p_{д0} = 0,5$ [0%] ^{д0}	4,7±0,3 (95 % ДІ: 4,2–5,3) $p_{д0} = 0,009$ [73,8%] ^{д0}	5,3±0,3 (95 % ДІ: 4,7–5,8) $p_{д0} = 0,009$ [74,3%] ^{д0}	4,3±0,6 (95 % ДІ: 3,2–5,4) $p_{д0} = 0,009$ [76,4%] ^{д0}	4,4±0,4 (95 % ДІ: 3,6–5,3) $p_{д0} = 0,009$ [75,6%] ^{д0}	4,6±0,4 (95 % ДІ: 3,8–5,3) $p_{д0} = 0,009$ [75,2%] ^{д0}	< 0,001 [75,0%]	0,2 [12,1%]	0,5 [9,1%]	0,6 [6,1%]	0,8 [3,0%]	0,1 [18,9%]	0,1 [16,2%]	0,2 [13,5%]
21 день	18,4±0,6 (95 % ДІ: 17,2–19,7) $p_{д0} = 0,29$ [2,3%] ^{д0} $p_{д12} = 0,34$ [2,3%] ^{д12}	1,1±0,3 (95 % ДІ: 0,5–1,8) $p_{д0} < 0,01$ [93,7%] ^{д0} $p_{д12} < 0,01$ [75,8%] ^{д12}	3,7±0,4 (95 % ДІ: 2,9–4,5) $p_{д0} = 0,01$ [81,9%] ^{д0} $p_{д12} < 0,02$ [29,7%] ^{д12}	2,0±0,4 (95 % ДІ: 1,1–2,9) $p_{д0} = 0,01$ [89,0%] ^{д0} $p_{д12} < 0,03$ [53,3%] ^{д12}	1,7±0,5 (95 % ДІ: 0,7–2,7) $p_{д0} = 0,01$ [90,6%] ^{д0} $p_{д12} < 0,01$ [61,3%] ^{д12}	4,7±0,5 (95 % ДІ: 3,7–5,7) $p_{д0} = 0,37$ [74,4%] ^{д0} $p_{д12} = 0,37$ [3,1%] ^{д12}	< 0,001 [93,8%]	< 0,001 [225,0%]	< 0,001 [75,0%]	0,37 [50,0%]	< 0,001 [312,5%]	0,015 [46,2%]	0,011 [53,8%]	0,16 [26,9%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами $_{д0}$, $_{д12}$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Отримані результати щодо зменшення м'язової сили у щурів з АЕМ узгоджуються з даними *Наан А. та співавт.* [641], які експериментально встановили, що через 2,5 днів після розвитку максимальних клінічних ознак АЕМ маса медіального литкового м'язу щурів була нижчою на 33% ($p<0,05$) порівняно з показниками інтактних тварин. Площа поперечного перерізу волокон литкового м'язу була меншою на 40–50% у всіх типах волокон, а максимальна сила і потужність були значно нижчими відповідно на 58% та 73% у щурів з АЕМ [641].

Застосування референс-препарату МП призвело до меншого у 2,5 рази (відповідно 29,7% проти 75,8%) зменшення м'язової сили на 21 день відносно показників на 12 день експерименту (див. табл. 4.1), що ймовірно вказує на уповільнення прогресування АЕМ.

Досліджувані кріоекстракти значно поступались за здатністю впливати на збереження м'язової сили у щурів на тлі АЕМ референс-препарату МП. Дослідження показало, що на 21 день експерименту на тлі введення КЕП м'язова сила щурів з АЕМ статистично вірогідно ($p<0,03$) зменшилась на 53,3%, а на тлі застосування КЕС аналогічний показник зменшився ($p<0,01$) на 61,3% відносно показників у відповідних групах на 12 день експерименту, що відповідно у 1,8 та 2,1 рази поступалось за ефективністю референс-препарату МП (див. табл. 1).

Особливу увагу привертають результати дослідження м'язової сили у щурів з АЕМ, яким вводили КС-МСК. Дослідження показало, що введення досліджуваного безклітинного похідного від МСК привело до зупинки втрати м'язової сили у щурів з АЕМ, оскільки вказаний показник на 21 день експерименту практично співставлявся з аналогічним показником на 12 день експерименту та становив відповідно $4,7\pm 0,5$ с та $4,6\pm 0,4$ с, що на 26,9% ($p=0,16$) перевищувало за здатністю уповільнювати втрату м'язової маси ефективність референс-препарату МП (див. табл. 4.1).

Результати дослідження показали, що введення енцефалітогенної емульсії з гомогенату алогенного головного мозку та ПАФ призвело до

виразних розладів орієнтовно-дослідницької активності у щурів на 12 добу експерименту, що узгоджувалось з даними літературних джерел щодо клінічних проявів експериментального АЕМ [642].

Так, встановлено, що у щурів з АЕМ без лікування (контрольна група) на 12 день експерименту вимічалось статистично вірогідне ($p=0,009$) зниження на 78,8% рухової активності щурів відносно вихідних показників у тесті «відкрите поле» (табл. 4.2). Зниження рухової активності тварин з АЕМ вочевидь зумовлене руховими розладами, які як відомо характерні для хворих на РС. Найбільш поширені рухові розлади, описані при РС, включають синдром неспокійних ніг, тремор, атаксію, паркінсонізм, пароксизмальні дискінезії, хорею та балізм, міокімію обличчя, включаючи геміфаціальний спазм і спастичну паретичну геміфаціальну контрактуру, тики та туретизм. Анатомічна основа цих розладів недостатньо вивчена, однак зв'язок між ними та РС підтверджується клінічними та нейровізуалізаційними даними [643].

Встановлено, що п'ятиразове введення МП (на 12, 14, 16, 18 та 20 дні експерименту) у щурів з АЕМ призвело до відновлення рухової активності у щурів на 21 день експерименту – вказаний показник статистично вірогідно ($p<0,01$) зріс у 3,4 рази відносно показників на 12 день та становив відповідно $27,0\pm 1,8$ квадратів, у які зайшла тварина, що лише на 8,7% було нижче ($p=0,18$) за вихідні показники (див. табл. 4.2).

На тлі застосування всіх досліджуваних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів у щурів з АЕМ відмічалась тенденція до відновлення рухової активності тварин у тесті «відкрите поле». Аналіз відновлення рухової активності на 21 день експерименту у щурів з АЕМ показав, що найвиразніше зазначений показник зростав на тлі п'ятиразового введення КС-МСК ($p<0,01$), а найменше ($p<0,01$) рухова активність відновилась у щурів, яким вводили КЕС. За здатністю відновлювати рухову активність (% змін показника на 21 добу відносно показника на 12 добу) при АЕМ у щурів досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (368,6%) > КЕП (286,1%) > КЕС (102,0%).

Таблиця 4.2

Вплив КС-МСК, КЕС та МП на рухову активність щурів з АЕМ у тесті «відкрите поле» в динаміці, абс.
($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щури	Контроль (АЕМ без лікування)	АЕМ + МП	АЕМ + КЕП	АЕМ + КЕС	АЕМ + КС- МСК	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₅₋₂	p ₆₋₂	p ₄₋₃	p ₅₋₃	p ₆₋₃
«0» день	28,3±1,1 (95 % ДІ: 26,2–30,4)	28,9±0,8 (95 % ДІ: 27,2–30,5)	29,6±1,5 (95 % ДІ: 26,7–32,4)	28,7±1,3 (95 % ДІ: 26,2–31,2)	25,6±1,5 (95 % ДІ: 22,7–28,5)	28,1±1,5 (95 % ДІ: 25,1–31,1)	0,7 [2,0%]	0,7 [2,5%]	0,9 [0,5%]	0,1 [11,4%]	0,7 [2,5%]	0,7 [2,9%]	0,1 [15,1%]	0,5 [4,8%]
12 день	27,9±1,2 (95 % ДІ: 25,5–30,3) p _{д0} = 0,4 [1,5%] ^{д0}	6,1±0,8 (95 % ДІ: 4,6–7,7) p _{д0} < 0,009 [78,7%] ^{д0}	7,9±0,6 (95 % ДІ: 6,8–8,9) p _{д0} < 0,009 [73,4%] ^{д0}	5,1±0,6 (95 % ДІ: 4,0–6,3) p _{д0} < 0,009 [82,1%] ^{д0}	7,3±0,3 (95 % ДІ: 6,7–7,8) p _{д0} < 0,009 [71,5%] ^{д0}	5,0±0,3 (95 % ДІ: 4,4–5,6) p _{д0} < 0,009 [82,2%] ^{д0}	< 0,001 [77,9%]	0,1 [27,9%]	0,3 [16,3%]	0,2 [18,6%]	0,2 [18,6%]	< 0,01 [34,5%]	0,4 [7,3%]	< 0,01 [36,4%]
21 день	29,0±1,7 (95 % ДІ: 25,7–32,3) p _{д0} = 0,3 [2,5%] ^{д0} p _{д12} = 0,2 [4,1%] ^{д12}	14,3±1,1 (95 % ДІ: 12,2–16,4) p _{д0} < 0,01 [50,5%] ^{д0} p _{д12} < 0,01 [132,6%] ^{д12}	27,0±1,8 (95 % ДІ: 23,5–30,5) p _{д0} = 0,18 [8,7%] ^{д0} p _{д12} < 0,01 [243,6%] ^{д12}	19,9±1,6 (95 % ДІ: 16,8–22,9) p _{д0} < 0,01 [30,8%] ^{д0} p _{д12} < 0,01 [286,1%] ^{д12}	14,7±1,3 (95 % ДІ: 12,2–17,3) p _{д0} < 0,01 [42,5%] ^{д0} p _{д12} < 0,01 [102,0%] ^{д12}	23,4±2,4 (95 % ДІ: 18,7–28,1) p _{д0} < 0,01 [16,8%] ^{д0} p _{д12} < 0,01 [368,6%] ^{д12}	< 0,001 [50,7%]	< 0,001 [89,0%]	< 0,001 [39,0%]	0,8 [3,0%]	< 0,01 [64,0%]	0,01 [26,5%]	< 0,001 [45,5%]	0,26 [13,2%]

Примітки.

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами д₀, д₁₂ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Варто зазначити, що на тлі застосування КС-МСК рухова активність щурів з АЕМ найвиразніше відновлювалась до рівня вихідних показників та була меншою ($p < 0,01$) лише на 16,8%, відповідно $28,1 \pm 1,5$ квадратів на «0» день та $23,4 \pm 2,4$ квадратів на 21 день експерименту (див. табл. 4.2). В той же час усі досліджувані біологічні засоби поступались за здатністю відновлювати рухову активність щурів з АЕМ на 21 день експерименту референс-препарату МП. Так, на КЕС на 45,5% ($p < 0,001$) поступалось за здатністю відновлювати рухову активність МП, а КС-МСК поступався найменше – лише на 13,2 ($p = 0,26$) показникам щурів, яким вводили МП (див. табл. 4.2).

Рухові розлади у щурів супроводжувались статистично вірогідним ($p < 0,01$) зниженням дослідницької активності на 78,0% відносно вихідних показників – сумарні кількість підйомів на задні кінцівки та кількість зазирань та/або обнюхувань «нірок» у щурів з АЕМ на 12 день дослідження в середньому становила $4,1 \pm 0,9$ епізодів (табл. 4.3).

Дослідницька активність щурів з АЕМ відновлювалась меншою мірою ніж рухова активність – сумарна кількість епізодів дослідницької активності на тлі введення МП на 21 день експерименту статистично вірогідно ($p < 0,01$) зросла у 2,8 рази відносно показників на 12 день експерименту та становила $14,3 \pm 1,3$ епізодів в середньому (див. табл. 4.3).

Оцінка дослідницької активності щурів з АЕМ показала, що введення досліджуваних біологічних препаратів призводили до відновлення зазначеного спектра активності у щурів на 21 день експерименту. Встановлено, КС-МСК та КЕС перевищували ефективність МП за здатністю відновлювати дослідницьку активність щурів з АЕМ, що може вказувати на їх не лише протизапальну активність, а і можливу нейропротективну дію на моделі АЕМ. За здатністю відновлювати дослідницьку активність у щурів з АЕМ на 21 день експерименту безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності (% змін показника на 21 добу відносно показника на 12 добу): КС-МСК (347,1%; $p < 0,01$) > КЕС (186,2; $p < 0,01$) > КЕП (131,8%; $p < 0,01$).

Таблиця 4.3

Вплив КС-МСК, КЕС та МП на дослідницьку активність шурів з АЕМ у тесті «відкрите поле» в динаміці, абс.
($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні шури	Контроль (АЕМ без лікування)	АЕМ + МП	АЕМ + КЕП	АЕМ + КЕС	АЕМ + КС- МСК	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{5-2}	p_{6-2}	p_{4-3}	p_{5-3}	p_{6-3}
«0» день	18,0±1,4 (95 % ДІ: 15,2–20,8)	18,9±1,5 (95 % ДІ: 15,9–21,8)	20,1±1,8 (95 % ДІ: 16,6–23,7)	16,6±1,8 (95 % ДІ: 13,0–20,2)	19,7±1,6 (95 % ДІ: 16,6–22,8)	18,1±1,3 (95 % ДІ: 15,5–20,8)	0,7 [4,8%]	0,6 [6,8%]	0,4 [12,1%]	0,7 [4,5%]	0,7 [3,8%]	0,2 [17,7%]	0,9 [0%]	0,4 [9,5%]
12 день	19,1±1,4 (95 % ДІ: 16,4–21,9) $p_{д0} = 0,37$ [6,3%] ^{д0}	4,1±0,9 (95 % ДІ: 2,4–5,9) $p_{д0} < 0,01$ [78,0%] ^{д0}	5,1±1,1 (95 % ДІ: 2,9–7,4) $p_{д0} < 0,01$ [74,5%] ^{д0}	6,3±0,6 (95 % ДІ: 5,2–7,4) $p_{д0} < 0,01$ [62,1%] ^{д0}	4,1±0,8 (95 % ДІ: 2,6–5,7) $p_{д0} < 0,01$ [79,0%] ^{д0}	4,9±0,4 (95 % ДІ: 4,1–5,6) $p_{д0} < 0,01$ [73,2%] ^{д0}	< 0,001 [78,4%]	0,5 [24,1%]	0,1 [51,7%]	1,0 [0%]	0,5 [17,2%]	0,4 [22,2%]	0,5 [19,4%]	0,8 [5,6%]
21 день	20,3±1,9 (95 % ДІ: 16,6–24,0) $p_{д0} = 0,1$ [12,7%] ^{д0} $p_{д12} = 0,2$ [6,0%] ^{д12}	5,3±0,9 (95 % ДІ: 3,6–7,0) $p_{д0} < 0,01$ [72,0%] ^{д0} $p_{д12} = 0,18$ [27,6%] ^{д12}	14,3±1,3 (95 % ДІ: 11,7–16,9) $p_{д0} = 0,03$ [29,1%] ^{д0} $p_{д12} < 0,01$ [177,8%] ^{д12}	14,6±1,5 (95 % ДІ: 11,6–17,5) $p_{д0} = 0,12$ [12,1%] ^{д0} $p_{д12} < 0,01$ [131,8%] ^{д12}	11,9±1,4 (95 % ДІ: 9,1–14,6) $p_{д0} < 0,01$ [39,9%] ^{д0} $p_{д12} < 0,01$ [186,2%] ^{д12}	21,7±1,1 (95 % ДІ: 19,6–23,8) $p_{д0} < 0,01$ [19,7%] ^{д0} $p_{д12} < 0,01$ [347,1%] ^{д12}	< 0,001 [73,9%]	< 0,001 [170,3%]	< 0,001 [175,5%]	0,002 [124,3%]	< 0,001 [310,8%]	0,8 [2,0%]	0,2 [17,0%]	< 0,001 [52,0%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами $д0$, $д12$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Окрім наведених вище змін з боку рухової та дослідницької активності, встановлено, що на 12 день експерименту у щурів з АЕМ без лікування відмічалось статистично вірогідне ($p=0,02$) зниження емоційної активності на 70,4% (табл. 4.4) відносно вихідних показників. Встановлені зміни узгоджувались з даними літературних джерел [644]. На 21 день експерименту у щурів з АЕМ без лікування відмічено частковий регрес показників емоційної активності. Так, емоційна активність у щурів контрольної групи статистично вірогідно ($p=0,01$) зросла у 2,5 рази відносно показників на 12 день експерименту (див. табл. 4.4).

Оцінка емоційної активності показала, що на тлі застосування МП відмічалось співставне з показниками щурів контрольної групи зростання зазначеного виду активності, що становило відповідно 137,5% та 140,0% (див. табл. 4.4).

Встановлено, що у щурів, яким вводили КЕП, рівень емоційної активності становив $3,0 \pm 0,9$ (95% ДІ: 1,3–4,7), що на 162,5% було вище за показники тварин на 12 день. Це вказує на певне поліпшення емоційного стану під впливом КЕП, хоча показники були нижчими за рівень інтактних тварин.

У групі, що отримувала КЕС, показник емоційної активності склав $2,1 \pm 0,7$ (95% ДІ: 0,8–3,5), що на 150,0% перевищувало показник на 12 день.

Найкращий результат був у групі щурів з АЕМ, яким вводили КС-МСК, де емоційна активність склала $5,0 \pm 0,7$ (95% ДІ: 3,6–6,4), що на 288,9% перевищувало показники на 12 день експерименту (див. табл. 4.4). Це свідчить про значне поліпшення емоційного стану щурів, яке співставлялось з показниками щурів з АЕМ на 21 день експерименту, яким вводили референс-препарат МП ($5,1 \pm 0,6$ (95% ДІ: 4,0–6,3)), в вказувало на високий потенціал КС-МСК для відновлення емоційної активності в умовах АЕМ.

Таким чином, серед досліджуваних БКБЗ найвиразніше зростання емоційної активності на 21 день експерименту у щурів АЕМ відносно показників на 12 день відмічено на тлі застосування КС-МСК (288,9%; $p<0,01$), а найменше – на тлі застосування КЕС (150,0%; $p=0,09$).

Таблиця 4.4

Вплив КС-МСК, КЕС та МП на емоційну активність щурів з АЕМ у тесті «відкрите поле» в динаміці, абс.
($M \pm m$ (95 % ДІ, n=42))

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щери	Контроль (АЕМ без лікування)	АЕМ + МП	АЕМ + КЕП	АЕМ + КЕС	АЕМ + КС- МСК	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₅₋₂	p ₆₋₂	p ₄₋₃	p ₅₋₃	p ₆₋₃
«0» день	4,1±0,9 (95 % ДІ: 2,4–5,9)	3,9±0,9 (95 % ДІ: 2,1–5,6)	5,1±0,7 (95 % ДІ: 3,8–6,5)	3,3±0,6 (95 % ДІ: 2,2–4,4)	4,0±0,5 (95 % ДІ: 3,0–5,0)	3,7±0,9 (95 % ДІ: 1,9–5,5)	0,8 [6,9%]	0,3 [33,3%]	0,6 [14,8%]	0,9 [3,7%]	0,9 [3,7%]	0,1 [36,1%]	0,2 [21,5%]	0,2 [27,8%]
12 день	2,9±0,5 (95 % ДІ: 1,9–3,9) p _{д0} =0,014 [31,7%] ^{д0}	1,1±0,4 (95 % ДІ: 0,4–1,9) p _{д0} =0,021 [70,4%] ^{д0}	2,1±0,4 (95 % ДІ: 1,4–2,9) p _{д0} =0,014 [58,3%] ^{д0}	1,1±0,5 (95 % ДІ: 0,2–2,0) p _{д0} =0,017 [65,2%] ^{д0}	0,9±0,3 (95 % ДІ: 0,2–1,5) p _{д0} =0,014 [78,6%] ^{д0}	1,3±0,4 (95 % ДІ: 0,5–2,1) p _{д0} =0,030 [65,4%] ^{д0}	0,02 [60,0%]	0,1 [87,5%]	1,0 [0%]	0,6 [25,0%]	0,8 [12,5%]	0,1 [46,7%]	< 0,05 [60,0%]	0,2 [40,0%]
21 день	4,1±0,8 (95 % ДІ: 2,6–5,7) p _{д0} =0,47 [0%] ^{д0} p _{д12} =0,07 [45,0%] ^{д12}	2,7±0,5 (95 % ДІ: 1,8–3,6) p _{д0} =0,15 [29,6%] ^{д0} p _{д12} =0,01 [137,5%] ^{д12}	5,1±0,6 (95 % ДІ: 4,0–6,3) p _{д0} =0,34 [0%] ^{д0} p _{д12} < 0,01 [140,0%] ^{д12}	3,0±0,9 (95 % ДІ: 1,3–4,7) p _{д0} =0,29 [8,7%] ^{д0} p _{д12} =0,08 [162,5%] ^{д12}	2,1±0,7 (95 % ДІ: 0,8–3,5) p _{д0} =0,02 [46,4%] ^{д0} p _{д12} =0,09 [150,0%] ^{д12}	5,0±0,7 (95 % ДІ: 3,6–6,4) p _{д0} < 0,01 [34,6%] ^{д0} p _{д12} < 0,01, [288,9%] ^{д12}	0,15 [34,5%]	0,008 [89,5%]	0,15 [1,5%]	0,5 [21,1%]	0,018 [84,2%]	0,06 [41,7%]	0,006 [58,3%]	0,88 [2,8%]

Примітки.

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індexами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індexами д₀, д₁₂ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

4.2 Характеристика метаболічних змін у головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Дослідження показало, що на 22 день експерименту у щурів з АЕМ (контрольна група) рівень лактату в тканинах ГМ становив $4,40 \pm 0,13$ (95% ДІ: 4,14–4,66) мкмоль/г тканини. Цей показник був значно вищим порівняно з показниками в інтактних щурів, де рівень лактату складав $2,24 \pm 0,13$ (95% ДІ: 1,99–2,50) мкмоль/г тканини (табл. 4.5).

Добре відомо, що лактат є кінцевим продуктом анаеробного або аеробного гліколізу, який перетворюється з пірувату за допомогою лактатдегідрогенази-5 (LDH-5). Незважаючи на те, що він у великій кількості міститься в мозку, традиційно вважається побічним продуктом або відходом гліколізу [645]. Збільшення рівня лактату у тварин з АЕМ свідчить про порушення нормальних метаболічних процесів, зокрема активації анаеробного метаболізму внаслідок недостатності кисню та порушень в енергетичному забезпеченні клітин. Це є типовою рисою запальних процесів, що супроводжують нейрозапалення, які мають місце при АЕМ. Порушення аеробного метаболізму в тканинах мозку призводить до накопичення лактату, що є свідченням анаеробної гліколітичної активності та загального зниження енергетичної ефективності клітин.

У групі щурів, що отримували МП, рівень лактату був $4,24 \pm 0,14$ (95% ДІ: 3,98–4,51) мкмоль/г тканини, що на 3,6% менше, ніж у контрольній групі з АЕМ ($p=0,4$). Це свідчить про те, що МП має деякий ефект у корекції метаболічних порушень, зокрема здатний зменшити рівень лактату, але цей ефект не був статистично значущим порівняно з контролем, що вказує на помірну ефективність МП у нормалізації метаболічних порушень, пов'язаних з АЕМ.

Таблиця 4.5

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та МП на вміст лактату, пірувату та малату у тканинах головного мозку щурів з АЕМ на 22 день експерименту, мкмоль/г тканини ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АЕМ без лікув.)	АЕМ + МП	АЕМ + КЕП	АЕМ + КЕС	АЕМ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Лактат, мкмоль/г тканини	2,24±0,13 (95 % ДІ: 1,99–2,50)	4,40±0,13 (95 % ДІ: 4,14–4,66) $p_1 < 0,001$ [96,2%]	4,24±0,14 (95 % ДІ: 3,98–4,51) $p_2 = 0,4$ [3,6%]	3,27±0,10 (95 % ДІ: 3,08–3,46) $p_2 < 0,001$ [25,6%] $p_3 < 0,001$ [22,9%]	3,59±0,11 (95 % ДІ: 3,38–3,79) $p_2 < 0,001$ [18,5%] $p_3 = 0,003$ [15,5%]	3,00±0,16 (95 % ДІ: 2,69–3,31) $p_2 < 0,001$ [31,8%] $p_3 < 0,001$ [29,3%]
Піруват, мкмоль/г тканини	0,53±0,03 (95 % ДІ: 0,47–0,58)	0,24±0,04 (95 % ДІ: 0,16–0,33) $p_1 < 0,001$ [54,1%]	0,26±0,04 (95 % ДІ: 0,18–0,33) $p_2 = 0,8$ [5,9%]	0,27±0,03 (95 % ДІ: 0,22–0,33) $p_2 < 0,001$ [11,8%] $p_3 = 0,8$ [5,6%]	0,26±0,04 (95 % ДІ: 0,18–0,33) $p_2 = 0,8$ [5,9%] $p_3 = 1,0$ [0%]	0,31±0,03 (95 % ДІ: 0,26–0,37) $p_2 = 0,2$ [29,4%] $p_3 = 0,2$ [22,2%]
Малат, мкмоль/г тканини	0,40 [0,35; 0,50]	0,20 [0,20; 0,20] $p_1 = 0,001$ [50,0%]	0,20 [0,15; 0,25] $p_2 = 0,5$ [0%]	0,30 [0,25; 0,30] $p_2 = 0,024$ [50,0%] $p_3 = 0,042$ [50,0%]	0,20 [0,20; 0,25] $p_2 = 0,4$ [0%] $p_3 = 0,4$ [0%]	0,30 [0,20; 0,30] $p_2 = 0,1$ [50,0%] $p_3 = 0,2$ [0%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Застосування КЕП призвело до значного зниження рівня лактату. Так, у щурів, що отримували КЕП, рівень лактату знизився до $3,27 \pm 0,10$ (95% ДІ: 3,08–3,46) мкмоль/г тканини, що на 25,6% менше, ніж у щурів контрольної групи ($p < 0,001$). Це свідчить про ефективність КЕП у нормалізації метаболічних процесів в умовах АЕМ. Крім того, така суттєва зміна може бути пов'язана з потужними протизапальними та регенеративними властивостями, притаманними кріоекстракту плаценти. КЕП, ймовірно, активує процеси відновлення в тканинах мозку, знижуючи активність анаеробного метаболізму і сприяючи нормалізації енергетичного обміну, що виявляється у значному зменшенні рівня лактату. Це робить КЕП перспективним терапевтичним засобом корекції нейрозапалення, оскільки він може відновлювати нормальний рівень енергії в клітинах мозку, зменшуючи накопичення лактату.

Аналогічні зміни рівня лактату відмічено і в групах, що отримували КЕС та КС-МСК (див. табл. 4.5). Так, у групі, де застосовували КЕС, рівень лактату в тканинах ГМ становив $3,59 \pm 0,11$ (95% ДІ: 3,38–3,79) мкмоль/г тканини, що на 18,5% менше порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$). Це свідчить про вплив КЕС на метаболічні процеси в мозку щурів з АЕМ, зокрема на зниження рівня лактату. Однак, цей ефект був менш виражений, ніж у групі з КЕП, що може вказувати на різницю в механізмах дії між цими двома препаратами. КЕС, ймовірно, стимулюють процеси регенерації і знижують запальний процес у мозкових клітинах, але не настільки ефективно, як КЕП.

У групі щурів, що отримували КС-МСК, рівень лактату в тканинах ГМ становив $3,00 \pm 0,16$ (95% ДІ: 2,69–3,31) мкмоль/г тканини, що на 31,8% менше порівняно з контролем ($p < 0,001$). Це також вказує на ефективність КС-МСК у нормалізації метаболічних процесів. Кондиціоноване середовище, яке містить фактори росту і цитокіни, що виділяються МСК, ймовірно, стимулює відновлення пошкоджених тканин ГМ, що сприяє зниженню рівня лактату, а отже, і відновленню нормального енергетичного балансу в клітинах.

Враховуючи важливість рівня лактату як індикатора анаеробного метаболізму, зниження його концентрації після лікування різними

препаратами підтверджує їх потенціал для корекції метаболічних порушень при АЕМ, зокрема відновлення нормального енергетичного балансу в клітинах ГМ [645].

Іншим метаболітом анаеробного гліколізу є піруват. Піруват займає центральний метаболічний вузол завдяки своєму положенню на перехресті гліколізу та циклу трикарбонової кислоти. Він, як відомо, є кінцевим продуктом гліколізу та важливим інтермедіатом у процесах енергетичного обміну, а його концентрація може відображати ступінь порушень у метаболізмі та ефективність лікування [646].

Оцінка рівня пірувату показала, що у контрольній групі щурів без лікування (АЕМ) рівень пірувату в тканинах ГМ був значно знижений порівняно з інтактними щурами та становив $0,24 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,16–0,33) мкмоль/г тканини, що виявилося на 54,1% менше порівняно з інтактними щурами ($p < 0,001$). Інтактні щури мали рівень пірувату $0,53 \pm 0,03$ (95 % ДІ: 0,47–0,58) мкмоль/г тканини (див. табл. 4.5). Це свідчить про порушення нормальних метаболічних процесів у тканинах ГМ при АЕМ, зокрема, зменшення активності аеробного метаболізму. Зниження рівня пірувату може бути пов'язане з порушенням циклу Кребса і зниженням здатності клітин до аеробного окиснення глюкози, що є типовим при запальних процесах у мозку.

Застосування референс-препарату МП сприяло лише незначному підвищенню рівня пірувату, який становив $0,26 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,18–0,33) мкмоль/г тканини. Цей показник лише на 5,9% вищий порівняно з групою контролю ($p = 0,8$), але ефект лікування був помірним, оскільки рівень пірувату залишався значно нижчим порівняно з інтактними щурами. Це вказує на те, що МП має певний позитивний ефект на метаболічні процеси в ГМ щурів з АЕМ, але не відновлює повністю нормальну аеробну метаболічну активність клітин.

Застосування КЕП сприяло більш виразному підвищенню рівня пірувату. У групі, що отримувала КЕП, рівень пірувату становив $0,27 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,22–0,33) мкмоль/г тканини, що було на 11,8% вище, ніж у групі

щурів з АЕМ ($p < 0,001$). Однак різниця між показниками щурів, яким вводили КЕП та інтактними щурами була не настільки значною. Цей результат вказує на те, що КЕП сприяє відновленню нормальних метаболічних процесів у тканинах ГМ щурів з АЕМ, однак рівень пірувату в цій групі залишався нижчим, ніж в інтактних щурів.

Вплив КЕС також призвів до певного підвищення рівня пірувату. У групі щурів, що отримували КЕС, рівень пірувату становив $0,26 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,18–0,33) мкмоль/г тканини (див. табл. 4.5), що було на 5,9% більше, ніж у щурів контрольної групи з АЕМ ($p = 0,8$). Таким чином, ефект від застосування КЕС на метаболізм ГМ був порівняно схожим з результатами застосування МП та КЕП, що вказує на його помірну ефективність у нормалізації рівня пірувату.

У тварин, яким вводили КС-МСК, рівень пірувату був $0,31 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,26–0,37) мкмоль/г тканини. Це значення на 29,4% вище, ніж у щурів контрольної групи ($p = 0,2$), але показник залишався значно нижчим за рівень пірувату в інтактних щурів. Загалом, результати дослідження свідчать, що найбільш виражене підвищення рівня пірувату спостерігалось у групах, що отримували КС-МСК, це свідчить про його значний вплив на відновлення аеробних метаболічних процесів.

Малат був визначений як один із ключових метаболітів циклу Кребса, що відіграє важливу роль в аеробному метаболізмі та енергетичному обміні клітин. Він є проміжним продуктом, який утворюється внаслідок окиснення пірувату через цикл лимонної кислоти, тому його рівень в організмі може бути індикатором активності цього циклу і загальної енергетичної ефективності клітин. Важливість малату полягає також у його здатності взаємодіяти з іншими молекулами метаболічних шляхів, зокрема, в процесах окиснення жирних кислот і регулюванні окислювально-відновних реакцій [646].

Дослідження впливу безклітинних уріоконсервованих біологічних засобів (КЕП, КЕС та КС-МСК) на рівень малату в тканинах ГМ щурів з АЕМ показало, що у щурів з АЕМ без лікування рівень вказаного метаболіту в тканинах ГМ був значно знижений порівняно з інтактними щурами та

становив 0,20 [0,20; 0,20] мкмоль/г тканини (див. табл. 4.5), що на 50% менше порівняно з рівнем малату в інтактних щурів, де показник складав 0,40 [0,35; 0,50] мкмоль/г тканини ($p=0,001$). Це значне зниження рівня малату може свідчити про порушення нормальних метаболічних процесів у ГМ щурів з АЕМ, що, ймовірно, пов'язано з пригніченням циклу Кребса та зниженням здатності клітин до аеробного окиснення енергетичних субстратів, таких як глюкоза та жирні кислоти. Зниження рівня малату може бути також індикатором порушення енергетичного забезпечення, характерного для АЕМ.

У групі, що отримувала МП, рівень малату був 0,20 [0,15; 0,25] мкмоль/г тканини. Застосування КЕП дало більш значущі результати у порівнянні з МП – рівень малату становив 0,30 [0,25; 0,30] мкмоль/г тканини, що було на 50% більше порівняно з показниками нелікованих тварин з АЕМ ($p=0,024$). Це свідчить про виражений ефект КЕП у нормалізації енергетичного метаболізму в тканинах ГМ щурів з АЕМ. Підвищення рівня малату в цій групі може бути результатом активації аеробних процесів окиснення та покращення функціонування циклу Кребса, що підтверджує потенціал КЕП для корекції метаболічних порушень, характерних для АЕМ. Можливо, КЕП впливає на регенерацію нейронів або мітохондрій, що сприяє відновленню енергетичних процесів у мозку.

У групі щурів, що отримували КЕС, рівень малату становив 0,20 [0,20; 0,25] мкмоль/г тканини, що не відрізняється від рівня малату в контрольній групі ($p=0,4$). Цей результат свідчить про те, що КЕС не мав значного впливу на рівень малату в тканинах ГМ. У групі щурів, що отримували КС-МСК, рівень малату становив 0,30 [0,20; 0,30] мкмоль/г тканини, що також на 50% більше порівняно з контрольною групою ($p=0,1$). Таким чином, найбільш виражене підвищення рівня малату спостерігалось при застосуванні КЕП та КС-МСК, що вказує на ефективність вказаних препаратів у відновленні аеробного метаболізму та нормалізації енергетичних процесів у ГМ.

Для характеристики змін у метаболічних процесах, зокрема в анаеробному та аеробному метаболізмі, в умовах запального процесу в мозку,

що супроводжує АЕМ, проведено оцінку лактат-піруватного співвідношення. Співвідношення лактату до пірувату відображає баланс між процесами анаеробного метаболізму (де лактат є кінцевим продуктом) та аеробного метаболізму, де основним продуктом є піруват. Зміни в цьому співвідношенні можуть бути індикатором порушення енергетичних процесів у клітинах мозку, що виникають через запалення, гіпоксію або інші патологічні процеси.

Встановлено що у щурів з АЕМ, які не отримували лікування (контрольна група), рівень співвідношення лактату до пірувату значно підвищився і становив 16,3 [14,3; 32,0] мкмоль/г тканини (рис. 4.1). Це значення майже в 4 рази більше за показник інтактних тварин, де співвідношення лактату до пірувату становило 4,3 [3,6; 4,4] мкмоль/г тканини. Таке підвищення співвідношення свідчить про значну активацію анаеробного метаболізму та порушення аеробних процесів, що є типовим для запальних та імунних захворювань. В умовах АЕМ, коли знижується ефективність функціонування мітохондрій, клітини переходять до анаеробного шляху отримання енергії, що призводить до накопичення лактату. Порівняння з інтактними тваринами показало високу статистичну значущість цього зростання ($p < 0,001$, 276,9%), що підтверджує виразне порушення метаболічних процесів у мозку щурів з АЕМ.

У щурів, які отримували МП, рівень співвідношення лактату до пірувату знизився до 15,3 [13,2; 20,5] мкмоль/г тканини. Це зниження на 6,1% порівняно з контрольною групою не є статистично значущим ($p = 0,4$), що свідчить про певний, але не значний ефект лікування. Протизапальна дія МП могла частково знизити запалення і відновити деяку нормалізацію метаболічних процесів, але, ймовірно, не було досягнуто повного відновлення нормального метаболізму, оскільки показник залишався значно підвищеним порівняно з інтактними щурами.

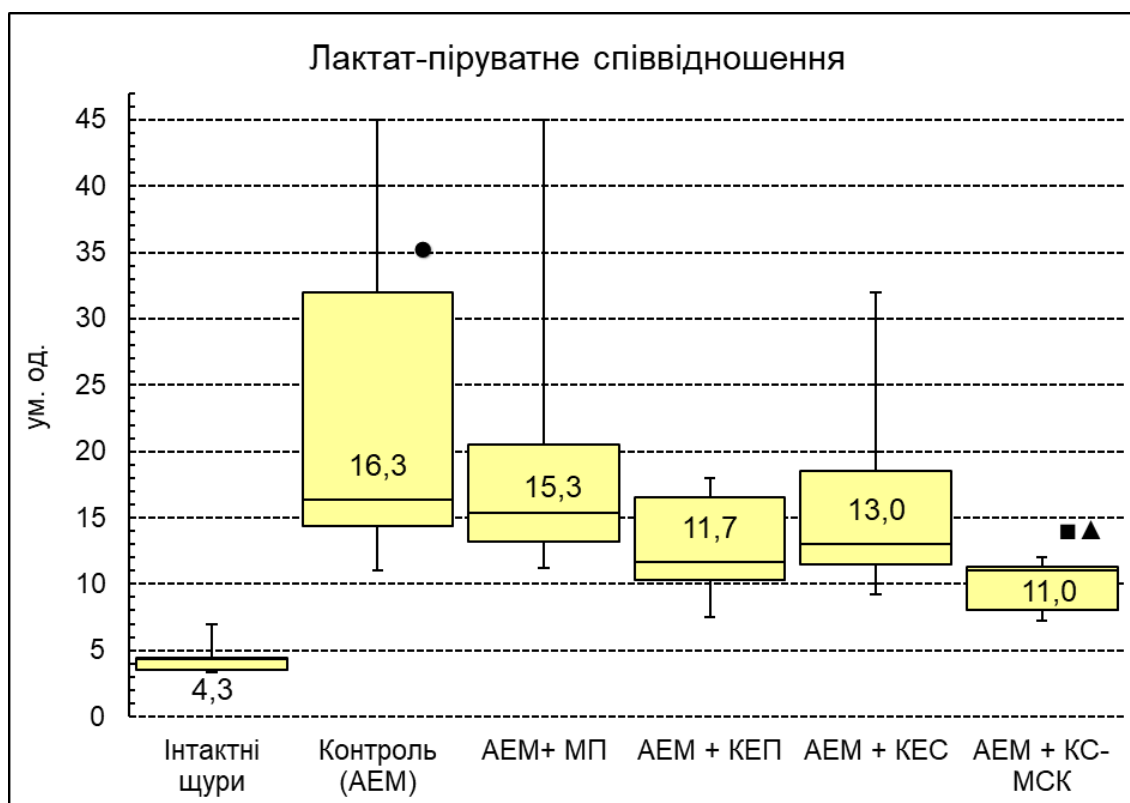


Рис. 4.1 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та метилпреднізолону на значення лактат-піруватного співвідношення в гомогенатах головного мозку щурів з АЕМ

Примітки.

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АЕМ (контрольна група);
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АЕМ, яким вводили МП.

На тлі застосування КЕП рівень співвідношення лактату до пірувату знизився до 11,7 [10,3; 16,5] мкмоль/г тканини (див. рис. 4.1), що є зниженням на 28,6% порівняно з контрольною групою ($p=0,06$). Порівняння з групою МП показало зниження на 23,9% ($p=0,07$), що також не є статистично значущим,

але цей результат вказує на позитивний ефект КЕП у частковому відновленні метаболічних процесів, хоча і не в повній мірі. Враховуючи механізм дії КЕП, який може мати імуностимулюючі та протизапальні властивості, це зниження співвідношення лактату до пірувату вказує на певне покращення енергетичних процесів у тканинах мозку, що може бути корисним для нормалізації функціонування нейронів.

У групі щурів, яким вводили КЕС, співвідношення лактату до пірувату становило 13,0 [11,5; 18,5] мкмоль/г тканини, що на 20,4% менше, ніж в контрольній групі ($p=0,1$). Це зниження, хоча і не досягає статистичної значущості, також вказує на певний позитивний ефект КЕС у зменшенні метаболічних порушень, пов'язаних з підвищеною активністю анаеробного метаболізму в умовах АЕМ.

Найвиразніше зниження співвідношення лактату до пірувату було відзначено при застосовуванні КС-МСК. Співвідношення лактату до пірувату становило 11,0 [8,0; 11,3], що на 32,7% нижче порівняно з показниками контрольної групи щурів ($p=0,003$) та на 28,3% менше порівняно з групою МП ($p=0,002$). Це значне зниження співвідношення є статистично значущим, що вказує на виражений ефект КС-МСК у відновленні аеробного метаболізму та зниженні переважання анаеробної активності. КС-МСК можуть сприяти відновленню функцій нейронів і нормалізації метаболічних процесів внаслідок своєї здатності до регенерації та протизапальних властивостей. Це свідчить про високу ефективність КС-МСК як терапевтичного засобу в умовах АЕМ, що дозволяє відновити баланс між аеробними та анаеробними метаболічними шляхами.

4.3 Вплив БКБЗ на енергетичні процеси в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом

Оцінка рівня аденілових нуклеотидів показала, що на тлі розвитку АЕМ у щурів на 22 день експерименту, вміст АТФ у тканинах ГМ був значно

знижений (табл. 4.6). Так, у контрольній групі (АЕМ без лікування) рівень АТФ становив $1,8 \pm 0,15$ мкмоль/г тканини, що на 32,3% менше порівняно з рівнем АТФ у інтактних щурів ($2,7 \pm 0,11$ мкмоль/г тканини, $p < 0,001$). Цей результат свідчить про порушення енергетичних процесів у клітинах ГМ, що є типовим для розвитку АЕМ, і може сприяти нейродегенерації та порушенню функцій ГМ.

Застосування МП призвело до зростання рівня АТФ до $2,0 \pm 0,07$ мкмоль/г тканини, що на 9,4% вище, ніж у контрольній групі, але цей результат не був статистично вірогідним ($p = 0,3$). МП, який має протизапальну та мембраностабілізуючу дію, дозволяє дещо покращити енергетичний стан клітин ГМ, однак його ефект не досяг рівня, характерного для здорових щурів, що може бути зумовлено недостатньою ефективністю для відновлення всіх порушених процесів у тканинах.

У тварин з АЕМ, яким вводили КЕП, рівень АТФ підвищився до $2,2 \pm 0,06$ мкмоль/г тканини, що на 21,1% було більше порівняно з показниками щурів контрольної групи ($p = 0,033$). На тлі введення КЕС рівень АТФ становив $2,2 \pm 0,08$ мкмоль/г тканини, що на 22,7% більше порівняно з контрольними щурами ($p = 0,031$). Цей результат вказує на ефективність КЕС, подібно до КЕП, у відновленні енергетичних процесів у клітинах ГМ.

Найвищий рівень АТФ був зафіксований у щурів, яким вводили КС-МСК (див. табл. 4.6) – рівень АТФ становив $2,8 \pm 0,12$ мкмоль/г тканини, що на 52,3% вище порівняно з показниками нелікованих тварин з АЕМ ($p < 0,001$). Це свідчить про найбільш виражений ефект відновлення енергетичних процесів у ГМ щурів, яких лікували КС-МСК. МСК мають потенціал для відновлення функціонування клітин, що сприяє покращенню енергетичного балансу.

Встановлено, що вміст АДФ у інтактних щурів становив $0,20 [0,15; 0,50]$ мкмоль/г тканини. У контрольній групі (АЕМ), де щури не отримували лікування, рівень АДФ знизився до $0,10 [0,10; 0,15]$ мкмоль/г тканини, що свідчить про зниження рівня АДФ, однак статистична значущість цього зниження була лише на рівні $p = 0,07$ (див. табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та МП на вміст аденілових нуклеотидів у тканинах головного мозку щурів з АЕМ на 52 день експерименту, мкмоль/г ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АЕМ без лікув.)	АЕМ + МП	АЕМ + КЕП	АЕМ + КЕС	АЕМ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г тканини	2,7±0,11 (95 % ДІ: 2,5–2,9)	1,8±0,15 (95 % ДІ: 1,5–2,1) $p_1 < 0,001$ [32,3%]	2,0±0,07 (95 % ДІ: 1,9–2,1) $p_2 = 0,3$ [9,4%]	2,2±0,06 (95 % ДІ: 2,1–2,3) $p_2 = 0,033$ [21,1%] $p_3 = 0,032$ [10,7%]	2,2±0,08 (95 % ДІ: 2,1–2,4) $p_2 = 0,031$ [22,7%] $p_3 = 0,038$ [11,3%]	2,8±0,12 (95 % ДІ: 2,5–3,0) $p_2 < 0,001$ [52,3%] $p_3 < 0,001$ [39,3%]
АДФ, мкмоль/г тканини	0,20 [0,15; 0,50]	0,10 [0,10; 0,15] $p_1 = 0,07$ [50,0%]	0,10 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,3$ [0%]	0,20 [0,20; 0,20] $p_2 = 0,03$ [100,0%] $p_3 = 0,06$ [100,0%]	0,10 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,3$ [0%] $p_3 = 0,5$ [0%]	0,20 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,2$ [100,0%] $p_3 = 0,3$ [100,0%]
АМФ, мкмоль/г тканини	0,10 [0,10; 0,20]	0,20 [0,20; 0,20] $p_1 = 0,13$ [0%]	0,20 [0,15; 0,20] $p_2 = 0,4$ [0%]	0,20 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,1$ [0%] $p_3 = 0,2$ [0%]	0,20 [0,20; 0,20] $p_2 = 0,5$ [0%] $p_3 = 0,4$ [0%]	0,20 [0,20; 0,25] $p_2 = 0,2$ [0%] $p_3 = 0,4$ [0%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

У тварин, яким вводили МП (група ІІІ), рівень АДФ залишався на рівні 0,10 [0,10; 0,20] мкмоль/г тканини, це не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p=0,3$), що свідчить про відсутність виразного ефекту МП на цей показник в умовах АЕМ.

Застосування КЕП призвело до збільшення рівня АДФ до 0,20 [0,20; 0,20] мкмоль/г тканини. Цей результат на 100% перевищує показник контрольної групи і є статистично вірогідним ($p=0,03$). Це вказує на потенціал КЕП для нормалізації енергетичних процесів у клітинах ГМ щурів з АЕМ. У групі щурів, яким вводився КЕС, рівень АДФ становив 0,10 [0,10; 0,20] мкмоль/г тканини, що не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p=0,3$) і контрольних щурів ($p=0,5$), що вказує на незначний ефект КЕС щодо цього показника. Найбільші зміни вмісту АДФ спостерігалися в групі щурів, яким було введено КС-МСК, де рівень АДФ становив 0,20 [0,10; 0,20] мкмоль/г тканини ($p=0,2$). Загалом, результати свідчать про деякі зміни в рівні АДФ при використанні терапевтичних агентів, але в більшості випадків відновлення рівня АДФ не досягло значущих показників порівняно з інтактними щурами.

Оцінка рівня АМФ показала, що на тлі розвитку АЕМ рівень АМФ зріс до 0,20 [0,20; 0,20] мкмоль/г тканини ($p=0,13$). У групі щурів, яким вводили МП, рівень АМФ залишався на рівні 0,20 [0,15; 0,20] мкмоль/г тканини, що не відрізнялося від показників контрольної групи ($p=0,4$). У групі щурів, яким вводили КЕП, рівень АМФ становив 0,20 [0,10; 0,20] мкмоль/г тканини ($p=0,1$), на тлі введення КЕС – рівень АМФ становив 0,20 [0,20; 0,20] мкмоль/г тканини ($p=0,5$). На тлі застосування КЕС у щурів з АЕМ рівень АМФ становив 0,20 [0,20; 0,25] мкмоль/г тканини, що теж не відрізнялося від показників контрольної групи ($p=0,2$). Таким чином, усі групи, що отримували лікування, продемонстрували відсутність статистично значущих змін у рівні АМФ порівняно з контрольною групою, що свідчить про незначний або відсутній вплив застосованих препаратів на цей показник у контексті АЕМ (див. табл. 4.6).

Важливо, щоб клітини підтримували адекватне співвідношення АТФ/АДФ для здійснення біологічних реакцій. АДФ, що утворюється в результаті цих реакцій, зазвичай перетворюється знову на АТФ шляхом гліколізу в цитозолі [647] або окисного фосфорилування [648] у мітохондріях. Якщо ці джерела вироблення АТФ скомпрометовані, то дві молекули зростаючого АДФ можуть бути перетворені в АТФ і АМФ аденілаткіназою [649].

З метою кількісної оцінки енергетичного стану клітини на основі концентрацій АТФ, АДФ і АМФ, нами розраховано АЕЗ. Відомо, що АЕЗ коливається від 0 (усі АМФ) до 1 (усі АТФ). Якщо АТФ, АДФ та АМФ мають однакову концентрацію, то енергетичний заряд дорівнює 0,5. Клітини підтримують енергетичний заряд між 0,7 і 0,9, регулюючи метаболічний потік, який є швидкістю обертання реагентів і продуктів через шляхи, які генерують і споживають АТФ. Дисбаланс між темпами використання та генерації АТФ викликає зниження енергетичного заряду. Отже, нижче значення енергетичного заряду сповільнює макромолекулярний синтез і ріст. Важливо, що клітини протидіють зниженню енергетичного заряду, зменшуючи швидкість реакцій споживання АТФ і збільшуючи швидкість реакцій регенерації АТФ [649].

Проведене нами дослідження показало, що в інтактних щурів рівень АЕЗ був $0,918 \pm 0,006$ (95% ДІ: 0,906–0,930) ум. од. (рис. 4.2), що відповідає нормі для здорових тварин. Це свідчить про оптимальний енергетичний стан клітин ГМ, де співвідношення АТФ, АДФ та АМФ перебуває в нормальних межах, і клітини здатні ефективно підтримувати свою функціональність через стабільну регенерацію АТФ.

На тлі розвитку АЕМ (контрольна група) рівень АЕЗ був знижений до $0,875 \pm 0,011$ (95% ДІ: 0,852–0,897). Це значення на 4,8% нижче порівняно з інтактними щурами ($p=0,004$), що свідчить про порушення енергетичних процесів у результаті розвитку АЕМ. Зниження АЕЗ вказує на дефіцит АТФ і погіршення регенерації енергії в клітинах ГМ.

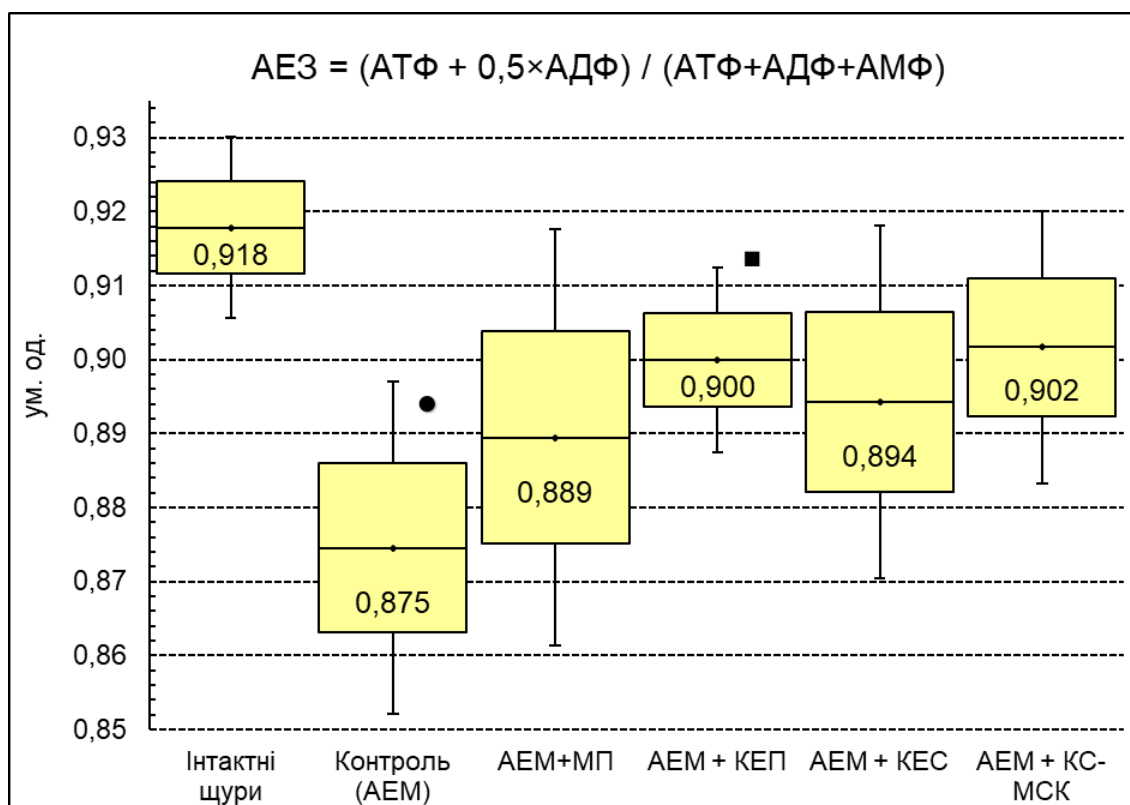


Рис. 4.2 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та метилпреднізолону на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах головного мозку щурів з АЕМ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АЕМ (контрольна група).

У групі щурів, які отримували МП (група ІІІ), рівень АЕЗ становив $0,889 \pm 0,014$ (95% ДІ: 0,861–0,918). Порівняно з контрольними щурами, це покращення на 1,6 % не досягло статистичної значущості ($p > 0,005$), що може свідчити про певний ефект від лікування, але недостатній для значного відновлення енергетичних процесів у мозку (див. рис. 4.2). Хоча

метилпреднізолон має протизапальну дію, він не сприяє повному відновленню нормального енергетичного балансу в клітинах ГМ, що підтверджується помірним зростанням значення АЕЗ.

У групі щурів, які отримували КЕП, рівень АЕЗ становив $0,900 \pm 0,006$ (95% ДІ: 0,888–0,912). Це значення на 2,9 % вище, ніж у контрольній групі ($p < 0,04$). У групі щурів, які отримували КЕС, рівень АЕЗ склав $0,894 \pm 0,012$ (95% ДІ: 0,871–0,918). Це значення не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p > 0,005$). Отже, ефект КЕС на відновлення енергетичного заряду був менш вираженим, порівняно з КЕП. Хоча КЕС може мати імуномодуючі властивості, його ефект на енергетичний баланс клітин ГМ виявився менш вираженим у порівнянні з КЕП. У щурів з АЕМ, які отримували КС-МСК, рівень АЕЗ становив $0,902 \pm 0,009$ (95% ДІ: 0,883–0,920).

Таким чином, результати експерименту показують, що КЕП має найбільший потенціал для покращення енергетичного балансу клітин ГМ при АЕМ.

Висновки до розділу 4

1. У щурів зі змодельованим АЕМ на 12 день експерименту відмічалось статистично вірогідне ($p = 0,009$) зниження м'язового тону на 73,8% та статистично вірогідне ($p = 0,02$) зниження емоційної активності на 70,4% відносно вихідних показників. За виразністю збереження м'язового тону у щурів з АЕМ на 21 день відносно показників 14 дня досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби доцільно розташувати у такій послідовності: КС-МСК (+3,1%; $p = 0,37$) > КЕП (-53,3%; $p < 0,03$) > КЕС (-61,3%; $p < 0,01$).
2. Розвиток АЕМ у щурів супроводжувався виразними розладами орієнтовно-дослідницької активності. На 12 добу експерименту вимічалось статистично вірогідне ($p = 0,009$) зниження на 78,8% рухової активності та статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження дослідницької активності щурів з АЕМ на 78,0% відносно вихідних показників. За здатністю відновлювати рухову активність (% змін

показника на 21 добу відносно показника на 12 добу) при АЕМ у щурів досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (368,6%) > КЕП (286,1%) > КЕС (102,0%). За здатністю відновлювати дослідницьку активність у щурів з АЕМ на 21 день експерименту досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності (% змін показника на 21 добу відносно показника на 12 добу): КС-МСК (347,1%; $p < 0,01$) > КЕС (186,2; $p < 0,01$) > КЕП (131,8%; $p < 0,01$).

3. За величиною зростання емоційної активності у щурів з АЕМ на 21 день експерименту відносно показників на 14 день досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби доцільно розташувати у такій послідовності: КС-МСК (+288,9%; $p < 0,01$) > КЕП (+162,5%; $p = 0,09$) > КЕС (+150,0%; $p = 0,09$).
4. У щурів з АЕМ рівень лактату в головному мозку на 22 день експерименту складав $4,40 \pm 0,13$ мкмоль/г, що значно перевищує рівень у інтактних тварин ($2,24 \pm 0,13$ мкмоль/г, $p < 0,001$). Введення КЕП не призвело до змін ($p = 0,4$), тоді як КЕС знизив рівень лактату до $3,27 \pm 0,10$ мкмоль/г ($p < 0,001$), а КС-МСК – до $3,00 \pm 0,16$ мкмоль/г ($p < 0,001$). Рівень пірувату в групі з АЕМ був знижений на 54,1% ($p < 0,001$). КЕП збільшив його до $0,27 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p < 0,001$), але залишався нижчим, ніж у інтактних тварин. КЕС і КС-МСК сприяли підвищенню пірувату, але ефект був меншим ($p = 0,8$ і $p = 0,2$ відповідно). Рівень малату в контрольній групі був знижений на 50% ($p = 0,001$). КЕП збільшив його до $0,30 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p = 0,024$), КЕС не показав змін ($p = 0,4$), а КС-МСК також збільшив рівень ($p = 0,1$).
5. Співвідношення лактату до пірувату у щурів з АЕМ без лікування було значно підвищене (16,3 [14,3; 32,0] мкмоль/г тканини), що свідчить про активацію анаеробного метаболізму ($p < 0,001$ порівняно з інтактними тваринами). Застосування КЕП призвело до зниження

цього співвідношення до 11,7 [10,3; 16,5] мкмоль/г тканини ($p=0,06$ порівняно з контролем), що вказує на позитивний ефект препарату, хоча зміни були не статистично значущими. У групах, що отримували КЕС ($p=0,1$) та КС-МСК ($p<0,001$), також спостерігалось зниження співвідношення, з найбільшим ефектом у групі, яка отримувала КС-МСК (11,0 [8,0; 11,3]).

6. У результаті дослідження встановлено, що на тлі АЕМ у щурів спостерігалось значне зниження рівня АТФ ($1,8\pm0,15$ мкмоль/г, на 32,3% менше, $p<0,001$) та АЕЗ ($0,875\pm0,011$, на 4,8% менше, $p=0,004$), що вказує на порушення енергетичних процесів у клітинах головного мозку. Лікування КЕП покращило рівень АТФ до $2,0\pm0,07$ мкмоль/г (на 9,4%, $p=0,3$) та АЕЗ до $0,900\pm0,006$ (на 4,4%, $p<0,04$). Найбільш виражене відновлення енергетичних показників спостерігалось при застосуванні КС-МСК, де рівень АТФ становив $2,8\pm0,12$ мкмоль/г (на 52,3% більше, $p<0,001$) і АЕЗ – $0,902\pm0,009$. Це свідчить про високий потенціал КС-МСК для відновлення енергетичного балансу при АЕМ.

Основні положення цього розділу викладено у 6 публікаціях автора [46, 47, 57, 69, 71, 88].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ТИРЕОТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ ПРИ ЗМОДЕЛЬОВАНОМУ АУТОІМУННОМУ ТИРЕОЇДИТІ У ЩУРІВ

Розділ присвячено дослідженню тиреотропної активності БКБЗ у щурів з АІТ. У рамках експерименту оцінювали вплив КЕП, КЕС, КС-МСК у порівнянні з референс-препаратом L-тироксином на рівень тиреоїдних гормонів, антитіл до тиреоглобуліну та імуноглобулінів. Отримані результати свідчать про значні зміни в гормональному фоні та імунній відповіді у щурів з АІТ, що дозволяє оцінити терапевтичний потенціал досліджених біологічних засобів. Результати показали, що КС-МСК виявився найбільш ефективним у корекції порушень, спричинених АІТ. Цей препарат забезпечив значне зниження рівнів антитіл до тиреоглобуліну, а також продемонстрував найкращі результати у зниженні рівнів IgA, IgM та IgG, що свідчить про високий терапевтичний потенціал КС-МСК для лікування АІТ.

5.1 Зміни рівнів тиреоїдних гормонів і антитіл до тиреоглобуліну після застосування БКБЗ при АІТ

Вихідний рівень АТ до ТГ (на початку експерименту) серед щурів у контрольній групі (АІТ без лікування) становив $27,0 \pm 1,5$ (95 % ДІ: 24,1–29,9) Од/мл. В інших групах рівень антитіл був подібним і варіювався між $25,3 \pm 1,7$ (група I) та $27,9 \pm 2,4$ (група IV). Вірогідність розбіжності між групами на початку дослідження була дуже низькою, що підтверджується р-значенням на рівні 0,5–0,9 для порівняння різних груп. Це свідчить про те, що на початку експерименту всі групи були статистично подібними за рівнем антитіл.

Через 14 днів спостерігались значні зміни в рівнях АТ до ТГ у порівнянні з вихідними показниками (табл. 5.1). Для щурів контрольної групи (АІТ без лікування) рівень антитіл значно зріс, досягнувши $51,3 \pm 1,5$ (95% ДІ: 48,3–54,3) Од/мл, що відповідає збільшенню на 89,9% порівняно з початковим рівнем ($p=0,009$). Цей результат підтверджує активне прогресування аутоімунного процесу.

На 28 день експерименту рівень АТ до ТГ у всіх групах, що отримували лікування, значно змінювався (див. табл. 5.1). Підвищення спостерігалось лише у групі ІІІ, де щури отримували L-тироксин. У цій групі рівень антитіл досяг $73,9 \pm 3,1$ (95% ДІ: 67,8–79,9) Од/мл, що свідчить про зростання на 192,4% порівняно з початковими показниками ($p<0,01$).

У щурів, яким вводили КЕП на 28 день експерименту, відмічено зниження рівня АТ до ТГ на 11,2% ($p=0,09$) відносно показників на 14 день.

У тварин, яким вводили КЕС, рівень антитіл на 28 день складав $58,0 \pm 2,3$ Од/мл, що статистично вірогідно ($p=0,04$) на 11,5% було вище за показники у цих тварин на 14 день експерименту ($52,0 \pm 2,2$ Од/мл).

Найбільше зниження рівня АТ до ТГ спостерігалось у групі щурів, що отримували КС-МСК. Рівень антитіл у цій групі складав $46,0 \pm 2,0$ Од/мл, що на 13,9% менше, ніж на 14 день (див. табл. 5.1). Цей результат свідчить про високу ефективність КС-МСК у корекції аутоімунних порушень при АІТ.

Таким чином, результати експерименту демонструють різновекторний вплив БКБЗ на рівень АТ до ТГ у сироватці крові щурів з АІТ. КЕС подібно до L-тироксину викликав зростання рівня антитіл на 28 день порівняно з показниками на 14 день експерименту. Проте, вказане зростання різниться за виразністю – на тлі введення референс-препарату L-тироксину рівень АТ до ТГ на 28 день експерименту статистично вірогідно ($p<0,01$) на 192,4% перевищував вихідні показники на початку експерименту, в той час як на тлі введення КЕС рівень антитіл лише на 112,6% ($p<0,01$) перевищував вихідний рівень АТ до ТГ. Результати дослідження також показують, що застосування КС-МСК має потенціал для зниження рівня АТ до ТГ при АІТ у щурів.

Таблиця 5.1

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень антитіл (АТ) до тиреоглобуліну (ТГ)
у сироватці крові щурів з АІТ у динаміці ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)**

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щури	Контроль (АІТ без лікування)	АІТ + левоти- роксин	АІТ + КЕП	АІТ + КЕС	АІТ + КС- МСК	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{5-2}	p_{6-2}	p_{4-3}	p_{5-3}	p_{6-3}
«0» день	25,4±1,5 (95 % ДІ: 22,4–28,4)	27,0±1,5 (95 % ДІ: 24,1–29,9)	25,3±1,7 (95 % ДІ: 22,0–28,6)	27,9±2,4 (95 % ДІ: 23,1–32,6)	27,3±1,5 (95 % ДІ: 24,3–30,2)	27,3±2,2 (95 % ДІ: 22,9–31,7)	0,5 [6,2%]	0,5 [6,3%]	0,8 [3,2%]	0,4 [1,1%]	0,9 [1,1%]	0,4 [10,2%]	0,4 [10,7%]	0,5 [7,9%]
14 день	26,4±2,1 (95 % ДІ: 22,4–30,5) $p_{д0} = 0,3$ [3,9%] ^{д0}	51,3±1,5 (95 % ДІ: 48,3–54,3) $p_{д0} = 0,009$ [89,9%] ^{д0}	51,7±1,5 (95 % ДІ: 48,7–54,7) $p_{д0} = 0,009$ [104,5%] ^{д0}	52,4±1,4 (95 % ДІ: 49,8–55,1) $p_{д0} = 0,009$ [88,2%] ^{д0}	52,0±2,2 (95 % ДІ: 47,7–56,3) $p_{д0} = 0,009$ [90,6%] ^{д0}	52,3±1,9 (95 % ДІ: 49,7–57,2) $p_{д0} = 0,009$ [95,8%] ^{д0}	< 0,001 [94,1%]	0,8 [0,8%]	0,6 [2,2%]	0,8 [1,4%]	0,4 [4,2%]	0,7 [1,4%]	0,9 [0,6%]	0,5 [3,3%]
28 день	26,7±1,6 (95 % ДІ: 23,5–29,9) $p_{д0} = 0,3$ [5,1%] ^{д0} $p_{д14} = 0,4$ [1,1%] ^{д14}	59,9±2,1 (95 % ДІ: 55,7–65,0) $p_{д0} < 0,01$ [121,7%] ^{д0} $p_{д14} = 0,03$ [16,7%] ^{д14}	73,9±3,1 (95 % ДІ: 67,8–79,9) $p_{д0} < 0,01$ [192,4%] ^{д0} $p_{д14} < 0,01$ [42,8%] ^{д14}	46,6±2,8 (95 % ДІ: 41,0–52,1) $p_{д0} < 0,01$ [67,2%] ^{д0} $p_{д14} = 0,09$ [11,2%] ^{д14}	58,0±2,3 (95 % ДІ: 53,6–62,5) $p_{д0} < 0,01$ [112,6%] ^{д0} $p_{д14} = 0,04$ [11,5%] ^{д14}	46,0±2,0 (95 % ДІ: 42,0–50,0) $p_{д0} = 0,03$ [68,6%] ^{д0} $p_{д14} = 0,03$ [13,9%] ^{д14}	< 0,001 [124,1%]	0,003 [23,4%]	< 0,001 [22,2%]	0,56 [3,1%]	< 0,0001 [23,2%]	< 0,0001 [36,9%]	0,001 [21,5%]	< 0,001 [23,2%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індexами 1, 2, 3, 4, 5, 6 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індexами $д0$, $д14$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Проведене дослідження показало, що на тлі розвитку АІТ у щурів на 28 день експерименту спостерігалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня загального ТЗ на 72,0% у контрольній групі (щури з АІТ без лікування), порівняно з інтактними щурами (табл. 5.2). Рівень загального ТЗ у контрольній групі становив $3,1 \pm 0,15$ (95% ДІ: 2,8–3,4) нмоль/л, що значно перевищує рівень ТЗ в інтактних щурів ($1,8 \pm 0,11$ (95% ДІ: 1,6–2,0) нмоль/л).

На тлі проведення терапії спостерігалась різна виразність впливу досліджуваних препаратів на рівень загального ТЗ. Так, у групі щурів, які отримували L-тироксин, рівень загального ТЗ становив $3,2 \pm 0,13$ (95% ДІ: 3,0–3,5) нмоль/л, що не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p = 0,5$). Проте на тлі введення КЕП рівень загального ТЗ знизився на 19,1% ($p = 0,01$) і становив $2,5 \pm 0,14$ (95% ДІ: 2,2–2,8) нмоль/л, що є статистично вірогідним порівняно з показниками тварин контрольної групи. У щурів, яким вводили КЕС та КС-МСК також спостерігалось зниження рівня загального ТЗ: на тлі введення КЕС рівень ТЗ знизився на 13,5% ($p = 0,06$), до $2,7 \pm 0,14$ (95% ДІ: 2,4–2,9) нмоль/л, а на тлі введення КС-МСК, цей показник знизився на 36,6% ($p < 0,001$) – до $2,0 \pm 0,14$ (95% ДІ: 1,7–2,2) нмоль/л.

Згідно з отриманими результатами, найбільш виразне зниження рівня загального ТЗ відбулось у групі щурів, які отримували КС-МСК, що свідчить про можливий потужний коригувальний ефект цього препарату на гормональний фон у щурів з АІТ.

Щодо рівня вільного ТЗ, то він також зазнав суттєвих змін в аналогічних умовах експерименту. У щурів контрольної групи рівень вільного ТЗ досяг $7,7 \pm 0,22$ (95% ДІ: 7,3–8,2) пкмоль/л, що на 133,6% перевищувало рівень вільного ТЗ у інтактних щурів ($3,3 \pm 0,16$ (95% ДІ: 3,0–3,6) пкмоль/л). При цьому введення L-тироксину щурам з АІТ призвело до зниження рівня вільного ТЗ на 30,3% ($p < 0,001$), до $5,4 \pm 0,14$ (95% ДІ: 5,1–5,7) пкмоль/л. У групах тварин, яким вводили КЕП та КЕС рівень вільного ТЗ також знизився, хоча цей ефект був менш виразним, ніж у групі тварин з АІТ, яким вводили L-тироксин (див. табл. 5.2).

Таблиця 5.2

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень трийодтироніну (Т3)
у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІТ без лікування)	АІТ + левотироксин	АІТ + КЕП	АІТ + КЕС	АІТ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальний трийодтиронін, нмоль/л	1,8±0,11 (95 % ДІ: 1,6–2,0)	3,1±0,15 (95 % ДІ: 2,8–3,4) $p_1 < 0,001$ [72,0%]	3,2±0,13 (95 % ДІ: 3,0–3,5) $p_2 = 0,5$ [4,7%]	2,5±0,14 (95 % ДІ: 2,2–2,8) $p_2 = 0,01$ [19,1%] $p_3 = 0,002$ [22,7%]	2,7±0,14 (95 % ДІ: 2,4–2,9) $p_2 = 0,06$ [13,5%] $p_3 = 0,012$ [19,2%]	2,0±0,14 (95 % ДІ: 1,7–2,2) $p_2 < 0,001$ [36,6%] $p_3 < 0,001$ [39,1%]
Вільний трийодтиронін, пкмоль/л	3,3±0,16 (95 % ДІ: 3,0–3,6)	7,7±0,22 (95 % ДІ: 7,3–8,2) $p_1 < 0,001$ [133,6%]	5,4±0,14 (95 % ДІ: 5,1–5,7) $p_2 < 0,001$ [30,3%]	4,0±0,19 (95 % ДІ: 3,6–4,4) $p_2 < 0,001$ [48,5%] $p_3 < 0,001$ [26,2%]	5,0±0,15 (95 % ДІ: 4,8–5,3) $p_2 < 0,001$ [34,9%] $p_3 = 0,1$ [6,6%]	4,7±0,22 (95 % ДІ: 4,3–5,2) $p_2 < 0,001$ [38,7%] $p_3 = 0,028$ [12,2%]
Загальний Т3 / вільний Т3, нмоль/пкмоль	0,55±0,06 (95 % ДІ: 0,44–0,66)	0,40±0,03 (95 % ДІ: 0,35–0,45) $p_1 = 0,03$ [27,4%]	0,60±0,03 (95 % ДІ: 0,53–0,66) $p_2 < 0,001$ [49,7%]	0,63±0,04 (95 % ДІ: 0,56–0,70) $p_2 = 0,03$ [57,2%] $p_3 = 0,6$ [5,0%]	0,53±0,03 (95 % ДІ: 0,47–0,59) $p_2 = 0,007$ [32,2%] $p_3 = 0,1$ [11,7%]	0,42±0,04 (95 % ДІ: 0,34–0,51) $p_2 = 0,7$ [5,5%] $p_3 = 0,007$ [32,9%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Зокрема, на тлі введення КЕП рівень вільного Т3 знизився на 48,5% ($p < 0,001$) та становив $4,0 \pm 0,19$ (95% ДІ: 3,6–4,4) пкмоль/л, а на тлі введення КЕС рівень вільного Т3 становив $5,0 \pm 0,15$ (95% ДІ: 4,8–5,3) пкмоль/л, що було нижче на 34,9% ($p < 0,001$) відносно показників щурів контрольної групи (АІТ без лікування). Введення КС-МСК теж призвело до зниження рівня вільного Т3 до $4,7 \pm 0,22$ (95% ДІ: 4,3–5,2) пкмоль/л, що на 38,7% статистично вірогідно ($p < 0,001$) було нижче за показники щурів контрольної групи (див. табл. 5.2).

Таким чином, дані дослідження свідчать про те, що введення як референс-препарату L-тироксину, так і КЕП, КЕС та КС-МСК має суттєвий вплив на рівень Т3 у сироватці крові щурів з АІТ, зокрема виявлено виразне зниження рівня загального та вільного Т3 на тлі лікування. Зниження рівня Т3 на тлі введення КС-МСК виявилось найбільш значущим, що свідчить про можливі механізми його лікувальної ефективності у тварин з АІТ.

За результатами дослідження рівня загального та вільного Т3 встановлено, що на 28 день експерименту у щурів з АІТ відмічено статистично вірогідне ($p = 0,03$) зниження співвідношення загального до вільного Т3 на 27,4% у контрольній групі (АІТ без лікування), порівняно з інтактними щурами. Це свідчить про порушення функції ЩЗ в умовах АІТ, яке проявляється в зниженні доступності вільного Т3 (див. табл. 5.2).

У групі щурів, яким був введений L-тироксин, співвідношення загального Т3 до вільного Т3 підвищилось на 49,7% ($p < 0,001$) відносно показників тварин контрольної групи, що свідчить про нормалізацію рівня гормонів ЩЗ при використанні синтетичного аналога тиреоїдного гормону.

На тлі застосування КЕП спостерігалось підвищення співвідношення загального Т3 до вільного Т3 на 57,2% ($p = 0,03$) відносно показників щурів контрольної групи. Застосування КЕС також привело до зростання аналогічного показника на 32,2% ($p = 0,007$), але ефект був значно менш виражений, порівняно з L-тироксином та КЕП.

Щури, які отримували КС-МСК, показали тенденцію до підвищення співвідношення загального Т3 до вільного Т3 лише на 5,5% ($p = 0,7$), що є

найменшим результатом серед досліджуваних біотехнологічних препаратів та на 32,9% статистично вірогідно ($p=0,007$) поступалось за здатністю відновлювати співвідношення загального до вільного Т3 референс-препарату L-тироксину (див. табл. 5.2).

Дослідження впливу КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень Т4 у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту показало статистично значущі зміни в рівні загального та вільного Т4. Так, на тлі розвитку АІТ у щурів спостерігалось підвищення рівня загального Т4 на 51,7% ($p<0,001$), що свідчить про розвиток дисбалансу в роботі ЩЗ. У щурів, що отримували L-тироксин, рівень загального Т4 був $98,0\pm 2,2$ (95 % ДІ: 93,6–102,4) нмоль/л (див. табл. 5.3).

У групах, що отримували КЕП, КЕС та КС-МСК відзначався значно нижчий рівень загального Т4, ніж у групі щурів з АІТ без лікування, однак був вищим, ніж у інтактних тварин. Так, на тлі введення КЕП рівень Т4 становив $78,4\pm 2,0$ (95 % ДІ: 74,5–82,3) нмоль/л, що вказує на помірне коригування рівня Т4, однак залишалось деяке порушення функції ЩЗ.

Щодо вільного Т4, то встановлено, що на тлі розвитку АІТ спостерігалось значне підвищення його рівня на 182,0% ($p<0,001$) у порівнянні з аналогічними показниками в інтактних щурів. Вільний Т4 у сироватці крові щурів з АІТ без лікування складав $24,6\pm 1,2$ (95 % ДІ: 22,2–26,9) пкмоль/л, що свідчить про порушення метаболізму тиреоїдних гормонів. Застосування L-тироксину призвело до статистично вірогідного зниження рівня вільного Т4 на 30,8% ($p<0,001$) відносно показників нелікованих щурів з АІТ, що вказує на здатність до нормалізації рівня вказаного гормону.

У щурів, що отримували КЕП, рівень вільного Т4 становив $16,7\pm 1,3$ (95% ДІ: 14,2–19,3) пкмоль/л, що вказує на часткову нормалізацію цього показника, однак залишалось відхилення від норми. У групі, що отримувала КЕС, рівень вільного Т4 був $19,9\pm 0,5$ (95 % ДІ: 18,9–20,9) пкмоль/л, що також показує менш виразну тенденцію до зниження цього показника порівняно з групою тварин, яким вводили L-тироксин (див. табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень тироксину (Т4)
у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІТ без лікування)	АІТ + левотироксин	АІТ + КЕП	АІТ + КЕС	АІТ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальний тироксин, нмоль/л	66,3±1,6 (95 % ДІ: 63,2–69,4)	100,6±2,4 (95 % ДІ: 95,9–105,3) $p_1 < 0,001$ [51,7%]	98,0±2,2 (95 % ДІ: 93,6–102,4) $p_2 = 0,4$ [2,6%]	78,4±2,0 (95 % ДІ: 74,5–82,3) $p_2 < 0,001$ [22,0%] $p_3 < 0,001$ [20,0%]	99,6±2,3 (95 % ДІ: 95,0–104,1) $p_2 = 0,7$ [1,0%] $p_3 = 0,6$ [1,5%]	81,7±2,3 (95 % ДІ: 77,2–86,2) $p_2 < 0,001$ [18,8%] $p_3 < 0,001$ [16,6%]
Вільний тироксин, пкмоль/л	8,7±0,6 (95 % ДІ: 7,5–9,9)	24,6±1,2 (95 % ДІ: 22,2–26,9) $p_1 < 0,001$ [182,0%]	17,0±1,1 (95 % ДІ: 14,9–19,1) $p_2 < 0,001$ [30,8%]	16,7±1,3 (95 % ДІ: 14,2–19,3) $p_2 < 0,001$ [32,0%] $p_3 < 0,9$ [1,7%]	19,9±0,5 (95 % ДІ: 18,9–20,9) $p_2 = 0,003$ [19,2%] $p_3 = 0,03$ [16,8%]	12,4±0,8 (95 % ДІ: 11,0–13,9) $p_2 < 0,001$ [49,4%] $p_3 = 0,004$ [26,9%]
Загальний Т4 / вільний Т4, нмоль/пкмоль	7,9±0,7 (95 % ДІ: 6,4–9,4)	4,2±0,3 (95 % ДІ: 3,6–4,7) $p_1 < 0,001$ [47,3%]	5,9±0,4 (95 % ДІ: 5,1–6,8) $p_2 = 0,005$ [42,1%]	4,8±0,3 (95 % ДІ: 4,2–5,4) $p_2 < 0,001$ [15,8%] $p_3 = 0,06$ [18,5%]	5,0±0,1 (95 % ДІ: 4,7–5,3) $p_2 = 0,016$ [20,7%] $p_3 = 0,08$ [15,1%]	6,8±0,6 (95 % ДІ: 5,7–7,8) $p_2 = 0,001$ [62,3%] $p_3 = 0,3$ [14,2%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

На тлі введення КС-МСК рівень вільного Т4 у щурів з АІТ складав $12,4 \pm 0,8$ (95% ДІ: 11,0–13,9) пкмоль/л, що вказує на найвиразніше зниження рівня Т4 у порівнянні з іншими підходами до лікування. Таким чином, результати дослідження підтверджують, що використання біологічних препаратів, таких як КЕП, КЕС та КС-МСК, призводить до коригування рівня Т4. Так, найвиразніше зниження рівня загального Т4 у щурів з АІТ відмічене на тлі введення КЕП, а найвиразніше зниження рівня вільного Т4 відмічено на тлі введення КС-МСК – відповідно на 22,0% ($p < 0,001$) та 49,4% ($p < 0,001$), що на 20,0% ($p < 0,001$) та на 26,9% ($p = 0,004$) було нижче за підвищені аналогічні показники у групі щурів, яким вводили L-тироксин.

Оцінка впливу КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на співвідношення загального до вільного Т4 у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту виявило значні зміни у досліджуваних показниках. Співвідношення загального до вільного Т4 є важливим показником, що відображає ефективність перетворення Т4 в організмі та його доступність для тканин.

У щурів з АІТ без лікування співвідношення загального до вільного Т4 становило $4,2 \pm 0,3$ (95% ДІ: 3,6–4,7) нмоль/пкмоль, що на 47,3% було менше порівняно з показниками інтактних щурів ($p < 0,001$). Це свідчить про значне порушення метаболізму Т4 в умовах АІТ, що може бути пов'язано з порушенням зв'язку між загальним і вільним Т4 (див. табл. 5.3).

Застосування L-тироксину у щурів з АІТ призвело до статистично вірогідного підвищення співвідношення загального до вільного Т4 на 42,1% ($p = 0,005$), що вказує на ефективність цього препарату у відновленні функції ЩЗ та нормалізації гормональних показників. Співвідношення загального до вільного Т4 на тлі введення L-тироксину склало $5,9 \pm 0,4$ (95% ДІ: 5,1–6,8) нмоль/пкмоль, що наблизилося до рівня інтактних щурів ($7,9 \pm 0,7$ (95% ДІ: 6,4–9,4) нмоль/пкмоль). Ці результати вказують на те, що L-тироксин не тільки нормалізує рівень Т4 у крові, але й відновлює його оптимальне співвідношення.

Щодо груп тварин, які отримували досліджувані кріоекстракти, то тут спостерігалися деякі зміни, однак менш виразні порівняно з групою, що отримувала L-тироксин. Застосування КЕП призвело до підвищення співвідношення загального до вільного Т4 на 15,8% ($p < 0,001$), що відображає певну корекцію порушень метаболізму тироксину. Співвідношення загального до вільного Т4 у групі щурів, що отримували КЕП, становило $4,8 \pm 0,3$ (95 % ДІ: 4,2–5,4) нмоль/пкмоль. Це свідчить про помірне відновлення функції ЩЗ, але все ще нижче від показників групи інтактних щурів.

У щурів, що отримували КЕС, співвідношення загального до вільного Т4 становило $5,0 \pm 0,1$ (95% ДІ: 4,7–5,3) нмоль/пкмоль, що на 20,7% більше порівняно з групою АІТ без лікування, але залишалось меншим за показники інтактних тварин. Різниця була статистично вірогідною ($p = 0,016$), однак ефект лікування був менш вираженим порівняно з групою L-тироксину.

Щодо введення КС-МСК, то на тлі застосування цього препарату рівень співвідношення загального до вільного Т4 становив $6,8 \pm 0,6$ (95% ДІ: 5,7–7,8) нмоль/пкмоль, що на 62,3% більше порівняно з показниками щурів з АІТ без лікування ($p = 0,001$).

Загалом, ці результати свідчать, що на тлі розвитку АІТ відбувається порушення співвідношення загального до вільного Т4, що є важливим показником порушень у роботі ЩЗ. Застосування КС-МСК у щурів з АІТ виявилось найбільш ефективним у відновленні нормального співвідношення загального та вільного Т4.

5.2 Вплив КЕП, КЕС та КС-МСК на імуноглобуліновий профіль у щурів з АІТ

Дослідження показало, що у щурів контрольної групи, які не отримували лікування, рівень Ig у сироватці крові був значно вищим, ніж у інтактних тварин, що підтверджує активність аутоімунного процесу при експериментальному АІТ. Так, рівень IgA у щурів з АІТ без лікування

(контрольна група) був статистично вірогідно ($p < 0,001$) підвищений порівняно з інтактними тваринами та становив $8,2 \pm 0,2$ мг/мл, що на 31,4% більше порівняно з показниками інтактних тварин ($6,2 \pm 0,3$ мг/мл). Цей підвищений рівень IgA є характерним для АІЗ, оскільки в умовах аутоімунної активації спостерігається активація В-лімфоцитів та секреція антитіл до власних тканин організму, що призводить до підвищеного рівня Ig.

Рівень IgM у щурів контрольної групи, які не отримували лікування, становив $28,0 [23,5; 31,0]$ мг/мл. Це підвищення є типовим для аутоімунних процесів, оскільки IgM є першим антитілом, яке реагує на нові антигени і бере участь в ініціації імунної відповіді. Підвищення рівня IgM також свідчить про активацію імунної системи при АІТ. Щодо IgG, рівень у контрольних щурів склав $17,4 \pm 1,0$ (95% ДІ: 15,4–19,4) мг/мл, що було значно вищим за рівень у інтактних тварин ($10,7 \pm 0,9$ мг/мл). Підвищення рівня IgG є характерним для АІЗ, де відбувається вироблення антитіл, які можуть атакувати власні тканини організму. Це свідчить про хронічну активацію імунної системи у контрольних щурів, що є типовим при розвитку АІТ. Таким чином, у контрольній групі спостерігалися суттєві зміни в рівнях Ig, що вказують на активний аутоімунний процес.

Встановлено, що рівень IgA в сироватці крові щурів АІТ був значно змінений під впливом як БКБЗ, так і L-тироксину, які застосовувалися в експерименті. У проведеному дослідженні спостерігались значні коливання рівня IgA залежно від терапії (табл. 5.4), що вказує на різну ефективність застосованих препаратів у корекції імунних порушень.

Застосування L-тироксину (група III) сприяло статистично вірогідному ($p = 0,049$) зниженню рівня IgA в сироватці крові на 9,4% порівняно з контрольними тваринами – у групі щурів, які отримували L-тироксин, рівень IgA становив $7,4 \pm 0,3$ мг/мл. Це свідчить про те, що L-тироксин мав певний вплив на нормалізацію імунної відповіді, однак, цей ефект не був достатнім для досягнення рівня IgA, який би відповідав показникам, властивим інтактним тваринам.

Таблиця 5.4

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень імуноглобулінів (Ig) А, М та G у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІТ без лікування)	АІТ + левотироксин	АІТ + КЕП	АІТ + КЕС	АІТ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Рівень Ig А, мг/мл	6,2±0,3 (95 % ДІ: 5,7–6,8)	8,2±0,2 (95 % ДІ: 7,8–8,6) $p_1 < 0,001$ [31,4%]	7,4±0,3 (95 % ДІ: 6,9–8,0) $p_2 = 0,049$ [9,4%]	6,9±0,2 (95 % ДІ: 6,5–7,4) $p_2 = 0,001$ [15,5%] $p_3 = 0,2$ [6,8%]	7,6±0,5 (95 % ДІ: 6,6–8,6) $p_2 = 0,3$ [7,7%] $p_3 = 0,8$ [4,4%]	6,6±0,3 (95 % ДІ: 6,0–7,3) $p_2 = 0,001$ [19,2%] $p_3 = 0,1$ [10,8%]
Рівень Ig М, мг/мл	15,0 [14,7; 15,9]	28,0 [23,5; 31,0] $p_1 < 0,001$ [86,7%]	21,0 [20,0; 24,0] $p_2 = 0,018$ [25,0%]	20,0 [20,0; 21,5] $p_2 = 0,004$ [28,6%] $p_3 = 0,2$ [4,8%]	21,0 [19,5; 22,5] $p_2 = 0,01$ [25,0%] $p_3 = 0,28$ [0%]	17,0 [15,0; 19,5] $p_2 < 0,001$ [39,3%] $p_3 = 0,005$ [19,0%]
Рівень Ig G, мг/мл	10,7±0,9 (95 % ДІ: 9,0–12,5)	17,4±1,0 (95 % ДІ: 15,4–19,4) $p_1 < 0,001$ [62,7%]	11,3±0,7 (95 % ДІ: 10,0–12,6) $p_2 < 0,001$ [65,2%]	12,0±1,0 (95 % ДІ: 9,9–14,1) $p_2 < 0,001$ [31,1%] $p_3 = 0,6$ [6,3%]	10,0±0,7 (95 % ДІ: 8,6–11,4) $p_2 < 0,001$ [42,6%] $p_3 = 0,2$ [11,4%]	9,7±0,6 (95 % ДІ: 8,5–11,0) $p_2 < 0,001$ [44,3%] $p_3 = 0,1$ [13,9%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом $_1, _2, _3$ вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Зниження рівня IgA в групі, що отримувала L-тироксин, можна інтерпретувати як певну корекцію імунного статусу через нормалізацію тиреоїдної функції, однак це також вказує на те, що лише корекція рівня тиреоїдних гормонів не є достатньою для повної нормалізації імунної відповіді.

Порівняно з групою щурів, що отримували L-тироксин, досліджувані кріоекстракти – КЕП та КЕС – продемонстрували менший вплив на рівень IgA. Так, у групі щурів, що отримували КЕП (група IV), рівень IgA статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 15,5% відносно показників контрольної групи, і становив $6,9 \pm 0,2$ мг/мл. Це зниження рівня IgA свідчить про те, що КЕП виявив більш виражений ефект у порівнянні з L-тироксином. Однак, рівень IgA в цій групі залишався вище за показники інтактних тварин, що може вказувати на те, що КЕП не повністю компенсує аутоімунні порушення, що виникають у щурів з АІТ. Тим не менш, зниження рівня IgA на 15,5% є обґрунтованим доказом того, що КЕП має певну коригуючу дію на імунний статус щурів з АІТ.

Група щурів, які отримували КЕС (група V), показала менш виражене зниження рівня IgA, ніж група, яка отримувала КЕП. Рівень IgA в сироватці крові в цій групі становив $7,6 \pm 0,5$ мг/мл, що на 7,7% було нижче за показники тварин, які не отримували лікування. Це свідчить про те, що хоча КЕС має певний ефект на зниження рівня IgA, цей ефект не є настільки значним, як у групі щурів, що отримували КЕП. Можливо, препарат КЕС менш ефективний у корекції аутоімунної активації, що відображає результат, де рівень IgA знизився на мінімальну величину (див. табл. 5.4).

Найбільше зниження рівня IgA спостерігалось в групі щурів, які отримували КС-МСК (група VI). Рівень IgA в цій групі становив $6,6 \pm 0,3$ мг/мл, що статистично вірогідно ($p = 0,001$) на 19,2% менше порівняно з показниками тварин групи контролю. Це вказує на те, що КС-МСК має значно більший вплив на IgA в порівнянні з іншими досліджуваними препаратами. Цей результат можна трактувати як найбільш виразну корекцію

імунної відповіді, що вказує на високий потенціал КС-МСК для нормалізації імуноглобулінового профілю при АІТ. Ймовірно, це пов'язано з більш вираженим ефектом дії цього препарату на імунну систему, можливо, через його протизапальні властивості, які сприяють зниженню надмірної продукції IgA у відповідь на аутоімунне пошкодження.

Інтерпретуючи ці результати, можна стверджувати, що препарати, які застосовувалися в експерименті, мають різний рівень ефективності в корекції рівня IgA в умовах аутоімунного тиреоїдиту. Найбільший вплив на нормалізацію рівня IgA має КС-МСК, що вказує на його потенціал як перспективного терапевтичного засобу для лікування аутоімунних захворювань. Тим не менш, рівень IgA у групах, які отримували КЕП та КЕС, також знижувався, що вказує на можливість використання цих препаратів для часткової корекції імунної відповіді у разі АІТ.

Оцінка рівня IgM (див. табл. 5.4) у сироватці крові щурів з АІТ показала, що, порівняно з інтактними щурами, в яких рівень IgM складав 15,0 [14,7; 15,9] мг/мл, у щурів з АІТ без лікування рівень IgM статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 86,7% до 28,0 [23,5; 31,0] мг/мл. Це свідчить, що аутоімунний процес викликає активацію імунної системи, і проявляється в підвищеній продукції IgM. Підвищення рівня IgM є маркером первинної імунної відповіді, яку організм запускає у відповідь на порушення його власної імунної толерантності. У разі АІТ це означає, що організм активно реагує на аутоагресію, що спостерігається при пошкодженні тканин ЩЗ.

Введення L-тироксину у щурів з АІТ спричинило статистично вірогідне ($p = 0,018$) зниження рівня IgM до 21,0 [20,0; 24,0] мг/мл, що на 25,0% менше порівняно з контрольною групою. Це зниження свідчить про певний коригуючий ефект L-тироксину на імунну відповідь, однак рівень IgM залишався значно вищим порівняно з інтактними тваринами. L-тироксин допомагає знизити активність аутоімунного процесу, але не може повністю зупинити його.

Іншим препаратом, який був досліджений у контексті АІТ, є КЕП. У щурів, які отримували цей препарат, рівень IgM статистично вірогідно ($p=0,004$) знизився до 20,0 [20,0; 21,5] мг/мл, що на 28,6% менше порівняно з контрольною групою. Це вказує, що КЕП має більший ефект на зниження рівня IgM порівняно з L-тироксином. Ймовірно, КЕП володіє не тільки гормональною активністю, а й здатністю модулювати імунну відповідь, знижуючи аутоімунну активацію в організмі. Однак, навіть на тлі застосування КЕП рівень IgM залишався вищим за норму, що свідчить про недостатність цієї терапії для повного відновлення імунної толерантності.

Ще одним препаратом, який показав ефективність у зниженні рівня IgM, є КЕС. У групі щурів, які отримували цей препарат, рівень IgM знизився до 21,0 [19,5; 22,5] мг/мл, що на 25,0% менше порівняно з контрольними тваринами. Цей результат вказує на те, що КЕС також має імуномодулюючу активність, але її ефективність не була настільки виражена, як у групі, що отримувала КЕП. Зниження рівня IgM на фоні КЕС є суттєвим, однак воно не досягло рівня, характерного для здорових тварин.

Найбільше зниження рівня IgM спостерігалось в групі щурів, які отримували КС-МСК. У цих тварин рівень IgM знизився до 17,0 [15,0; 19,5] мг/мл, що на 39,3% статистично вірогідно ($p<0,001$) менше порівняно з показниками тварин контрольної групи. Це свідчить про високу ефективність КС-МСК у зниженні рівня IgM і корекції аутоімунного процесу. Зниження рівня IgM на тлі застосування КС-МСК є найбільшим серед усіх досліджених БКБЗ, що вказує на його потужний вплив на імунну систему. Препарат, ймовірно, має імуномодулюючі властивості, які дозволяють знижувати активність аутоімунного процесу, що призводить до нормалізації рівня IgM.

Порівняння впливу досліджуваних препаратів на рівень IgM показує, що КС-МСК є найбільш ефективним засобом серед усіх досліджених БКБЗ. Він не тільки знижує рівень IgM до значень, близьких до нормальних, але й має потужний імуномодулюючий ефект, який сприяє стабілізації імунної відповіді та зменшенню аутоімунної активації. Інші препарати, такі як L-тироксин, КЕП

та КЕС, також показали певну ефективність у зниженні рівня IgM, але їхній вплив був менш виражений.

Підвищення рівня IgG є класичним маркером хронічної імунної активації, яка зазвичай спостерігається при аутоімунних захворюваннях, таких як АІТ. Встановлено, що у щурів контрольної групи, які не отримували жодного лікування, рівень IgG був значно підвищений і становив $17,4 \pm 1,0$ мг/мл. Порівняно з інтактними щурами, де рівень IgG був $10,7 \pm 0,9$ мг/мл, статистично вірогідне ($p < 0,001$) підвищення рівня IgG на 62,7% у контрольних тварин свідчить про активний розвиток захворювання.

При застосуванні L-тироксину в групі щурів, які отримували цей препарат, рівень IgG знизився до $11,3 \pm 0,7$ мг/мл, що на 65,2% менше порівняно з контролем ($p < 0,001$). Застосування L-тироксину допомагає відновити нормальний рівень гормонів, що регулюють метаболічні процеси в організмі. Це призводить до зменшення запалення в ЩЗ і, відповідно, до зниження рівня IgG, що є ознакою зменшення аутоімунного процесу.

Щодо досліджуваних кріоекстрактів, то їх вплив на рівень IgG також був значним. У групі щурів, які отримували КЕП, рівень IgG склав $12,0 \pm 1,0$ мг/мл, що на 31,1% нижче, ніж у контрольних тварин ($p < 0,001$). Це свідчить про деякий протизапальний ефект КЕП, що допомагає знизити рівень IgG та зменшити аутоімунне ураження. Порівняно з іншими терапевтичними засобами, ефект КЕП був помірним, проте все одно статистично вірогідним.

У групі щурів, що отримували КЕС, рівень IgG був ще нижчим – $10,0 \pm 0,7$ мг/мл, що на 42,6% менше в порівнянні з контролем ($p < 0,001$). Це свідчить про більш виражений ефект кріоекстракту КЕС у зниженні рівня IgG. Відзначається, що КЕС має більш потужний імуносупресивний ефект порівняно з КЕП, що дозволяє зменшити рівень антитіл і, ймовірно, покращити стан щурів, які страждають на АІТ.

Найбільш значне зниження рівня IgG було виявлено у групі щурів, які отримували КС-МСК (див. табл. 5.4). У цих тварин рівень IgG становив $9,7 \pm 0,6$ мг/мл, що на 44,3% менше, ніж у контрольних щурів ($p < 0,001$). Цей

результат свідчить про дуже виражений ефект КС-МСК, що може бути пов'язано з його здатністю потужно впливати на імунну систему, знижуючи рівень аутоімунної активації. КС-МСК може стабілізувати імунний статус, знижуючи рівень IgG, що є важливим показником у лікуванні АІТ.

Отримані результати відкривають нові можливості для застосування кріоекстрактів у лікуванні АІЗ, таких як АІТ. Враховуючи їх здатність знижувати рівень IgA, М та G і впливати на імунну систему, вони можуть стати важливим компонентом терапії в комплексному лікуванні таких захворювань.

Висновки до розділу 5

1. У групі, щурів, які отримувала L-тироксин, рівень АТ до ТГ зріс до $73,9 \pm 3,1$ Од/мл, що на 192,4% перевищило вихідні показники ($p < 0,01$). У групі, що отримувала КЕП, рівень антитіл знизився на 11,2% ($p = 0,09$) порівняно з 14 днем. У групі з КЕС рівень антитіл збільшився на 11,5% ($p = 0,04$), досягнувши $58,0 \pm 2,3$ Од/мл. Найбільше зниження рівня АТ до ТГ спостерігалось в групі, що отримувала КС-МСК, де рівень антитіл на 28 день знизився на 13,9% ($46,0 \pm 2,0$ Од/мл). Це вказує на високу ефективність КС-МСК у корекції аутоімунних порушень при АІТ. Отже, препарати L-тироксин та КЕС сприяли підвищенню рівня антитіл, в той час як КС-МСК показав потенціал для зниження цього рівня, що свідчить про його ефективність у лікуванні АІТ.
2. У проведеному дослідженні на тлі розвитку АІТ у щурів спостерігалось статистично значуще підвищення рівня загального Т3 на 72,0% у контрольній групі порівняно з інтактними щурами ($p < 0,001$). Лікування L-тироксином не призвело до значних змін у рівні Т3 ($p = 0,5$), тоді як введення КЕП, КЕС і КС-МСК спричинило зниження рівня загального Т3: на 19,1%, 13,5% та 36,6% відповідно, з найбільш виразним ефектом у групі з КС-МСК ($p < 0,001$).

3. На тлі АІТ у щурів відбулося зниження співвідношення загального до вільного Т3 на 27,4% ($p < 0,001$), що свідчить про порушення функції ЩЗ. Лікування L-тироксином і КЕП сприяло значному підвищенню цього співвідношення, тоді як КЕС та КС-МСК показали менші результати.
4. Рівень загального Т4 у щурів з АІТ збільшився на 51,7% ($p < 0,001$), що вказує на порушення функції ЩЗ. Підвищений рівень вільного Т4 в групах з АІТ на 182,0% ($p < 0,001$) був коригований L-тироксином на 30,8% ($p < 0,001$). Найвиразніше зниження рівня загального Т4 у щурів з АІТ відмічене на тлі введення КЕП, а найвиразніше зниження рівня вільного Т4 відмічено на тлі введення КС-МСК – відповідно на 22,0% ($p < 0,001$) та 49,4% ($p < 0,001$), що на 20,0% ($p < 0,001$) та на 26,9% ($p = 0,004$) нижче за підвищені аналогічні показники у групі щурів, яким вводили L-тироксин.
5. Співвідношення загального до вільного Т4 у щурів з АІТ без лікування знизилося на 47,3% ($p < 0,001$), що підтверджує порушення метаболізму. Лікування L-тироксином призвело до підвищення цього співвідношення на 42,1% ($p = 0,005$), наближаючи його до рівня інтактних щурів. Введення КЕП та КЕС також покращило співвідношення, хоча ефекти були менш вираженими. На тлі введення КС-МСК співвідношення загального до вільного Т4 у щурів з АІТ становило $6,8 \pm 0,6$ (95% ДІ: 5,7–7,8) нмоль/пкмоль, що на 62,3% було більше порівняно з показниками щурів з АІТ без лікування ($p = 0,001$).
6. Лікування L-тироксином мало певний ефект, але не досягло нормалізації рівня IgA. Препарати КЕП, КЕС та КС-МСК продемонстрували здатність знижувати рівень IgA, при цьому КС-МСК виявився найбільш ефективним серед досліджених засобів, знижуючи рівень IgA на 19,2% ($p = 0,001$). Це свідчить про те, що

препарат КС-МСК має найвиразнішу терапевтичну дію щодо корекції імунної відповіді, пов'язаної з аутоімунним тиреоїдитом.

7. Застосування КС-МСК має найкращі результати у зниженні рівня IgM – вказаний показник статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 39,9% був нижчим за показники щурів контрольної групи, що свідчить про його високу ефективність у лікуванні АІТ. Найбільш виражене зниження рівня IgG у сироватці крові щурів з АІТ виявлено на тлі введення КС-МСК. Рівень IgG становив $9,7 \pm 0,6$ мг/мл, що на 44,3% менше, ніж у щурів контрольної групи ($p < 0,001$).

Основні положення цього розділу викладено у 4 публікаціях автора [42, 64, 82, 84].

РОЗДІЛ 6

КАРДИОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, ЕКСТРАКТУ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО МІОКАРДИТУ

У розділі представлені результати досліджень, що оцінюють ефективність БКБЗ в порівнянні з референс-препаратом кордароном, у корекції структурних та функціональних порушень серця у щурів з АІМ. За допомогою ультразвукової ехокардіографії були досліджені зміни у геометрії ЛШ, а також функціональні показники серця, такі як фракція викиду та фракція вкорочення. Результати показали, що АІМ спричиняє значні порушення у роботі серця, зокрема дилатацію ЛШ, гіпертрофію міокарда та зниження серцевого викиду. Водночас, лікування із застосуванням кардіопротекторних препаратів, таких як КС-МСК, КЕП та КЕС, продемонструвало виражену позитивну динаміку в поліпшенні як структурних, так і функціональних показників серцевої діяльності.

6.1 Ультразвукова характеристика морфоструктурних та функціональних змін міокарда при застосуванні БКБЗ в умовах АІМ

Встановлено, що на тлі розвитку АІМ у нелікованих щурів (контрольна група) відмічено зростання ЧСС до 434 ± 8 ударів за хвилину (95% ДІ: 418–449). Різниця між інтактними щурами та контрольною групою становила 14,7% ($p < 0,01$), що є статистично значущим результатом.

У щурів, яким вводили кордарон, ЧСС становила 431 ± 10 ударів за хвилину (95% ДІ: 413–450). Порівняно з контрольною групою цей результат

не був статистично значущим ($p > 0,05$). Такий самий результат спостерігався у групі щурів з АІМ, яким вводили КЕП, де ЧСС становила 439 ± 9 ударів за хвилину (95% ДІ: 421–456), також без статистично значущих відмінностей у порівнянні з іншими групами (рис. 6.1).

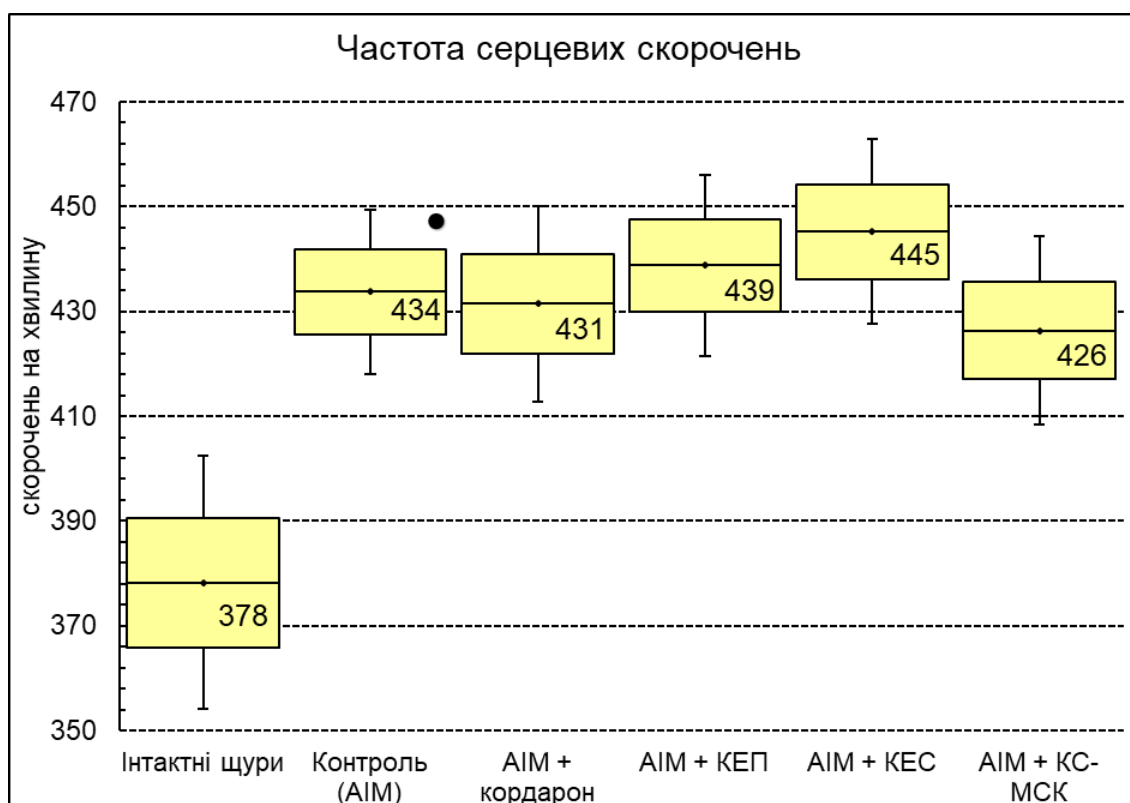


Рис. 6.1 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на ЧСС щурів з АІМ
Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;

На тлі введення КЕС ЧСС становила 445 ± 9 ударів за хвилину (95% ДІ: 428–463). У щурів, які отримували КС-МСК, ЧСС склала 426 ± 9 ударів за хвилину (95% ДІ: 408–444). Таким чином, результати дослідження свідчать,

що застосування кордарону, КЕП, КЕС та КС-МСК не призвело до значних змін у ЧСС у щурів з АІМ, порівняно з контрольною групою (див. рис. 6.1). Це може вказувати на те, що ці терапевтичні засоби не мали ефективного впливу на нормалізацію серцевого ритму в умовах АІМ у цьому дослідженні.

Дослідження показало, що на тлі розвитку АІМ у щурів на 28 день експерименту спостерігається статистично вірогідно ($p < 0,001$) вище значення кінцево-сistolічного діаметра (КСД) ЛШ до $5,5 \pm 0,17$ мм у контрольній групі порівняно з інтактними щурами ($3,7 \pm 0,15$ мм), що вказує на виражене порушення серцевої функції на тлі АІМ. В той же час введення кордарону (група ІІІ) призвело до зниження КСД до $4,4 \pm 0,09$ мм ($p < 0,001$), так і у щурів, яким вводили КС-МСК (група ІV) – до $3,8 \pm 0,11$ мм ($p < 0,001$), що свідчить про зменшення гіпертрофії ЛШ у порівнянні з контролем (табл. 6.1). Таким чином, КС-МСК продемонстрували найвиразніший ефект у зменшенні КСД ЛШ.

Що стосується кінцево-діастолічного діаметра (КДД) ЛШ, то у щурів контрольної групи зафіксовано збільшення до $6,6 \pm 0,23$ мм ($p = 0,2$) порівняно з інтактними щурами ($6,2 \pm 0,14$ мм). Введення кордарону не привело до значних змін ($p = 0,5$), а ось введення КС-МСК сприяло значному зниженню КДД до $6,3 \pm 0,12$ мм ($p = 0,01$), що є статистично значущим порівняно з групою, яка не отримувала лікування.

Загалом, дослідження показує, що КС-МСК та кордарон мають суттєвий вплив на діаметри ЛШ при АІМ, зокрема, КС-МСК демонструють більш виражену терапевтичну ефективність у зниженні значення КСД ЛШ, що вказує на їх потенціал у лікуванні серцевої недостатності, спричиненої АІМ.

У щурів, яким вводили КЕП, спостерігалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження КСД ЛШ на 27,6% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 6.1). Проте КДД не змінився значно після застосування КЕП, що вказує на те, що його вплив більше виражений на систолічну функцію серця.

Таблиця 6.1

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на діаметри лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, мм ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІМ без лікув.)	АІМ + кордарон	АІМ + КЕП	АІМ + КЕС	АІМ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Кінцево-діастолічний діаметр (КДД) лівого шлуночка (ЛШ), мм	6,2±0,14 (95 % ДІ: 6,0–6,5)	6,6±0,23 (95 % ДІ: 6,2–7,1) $p_1=0,2$ [6,4%]	6,8±0,14 (95 % ДІ: 6,6–7,1) $p_2=0,5$ [3,0%]	6,9±0,13 (95 % ДІ: 6,5–7,3) $p_2=0,4$ [4,2%] $p_3=0,7$ [1,1%]	6,5±0,13 (95 % ДІ: 6,3–6,8) $p_2=0,8$ [1,2%] $p_3=0,2$ [3,9%]	6,3±0,12 (95 % ДІ: 6,0–6,5) $p_2=0,2$ [6,5%] $p_3=0,01$ [8,2%]
Кінцево-сistolічний діаметр ЛШ (КСД, мм)	3,7±0,15 (95 % ДІ: 3,4–4,0)	5,5±0,17 (95 % ДІ: 5,1–5,8) $p_1<0,001$ [47,0%]	4,4±0,09 (95 % ДІ: 4,3–4,6) $p_2<0,001$ [18,9%]	4,0±0,09 (95 % ДІ: 3,8–4,1) $p_2<0,001$ [27,6%] $p_3=0,003$ [10,7%]	4,9±0,14 (95 % ДІ: 4,6–5,1) $p_2<0,001$ [22,7%] $p_3<0,001$ [30,3%]	3,8±0,11 (95 % ДІ: 3,6–4,0) $p_2<0,001$ [30,3%] $p_3<0,001$ [14,1%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

У щурів з АІМ без лікування за результатами ультрасонографічного дослідження показано, що товщина міжшлуночкової перегородки збільшилась на 30,0% відносно показників інтактних тварин та становила 0,91 [0,87; 0,96] мм (табл. 6.2), що вказує на те, що запалення і пошкодження серцевого м'яза викликають гіпертрофію міжшлуночкової перегородки. Це збільшення було статистично значущим ($p < 0,001$), і можна припустити, що це є свідченням виражених патологічних змін у серці, пов'язаних з АІМ.

У групі щурів, які отримували кордарон, ТМПД становила 0,82 [0,74; 0,86] мм. Порівняно з контрольною групою це зменшення було статистично значущим ($p = 0,01$, зменшення на 9,9%), що свідчить про деяку ефективність кордарону у зменшенні гіпертрофії серцевого м'яза при АІМ (див. табл. 6.2).

Що стосується групи щурів, які отримували КЕП, то ТМПД у діастолу становила 0,74 [0,72; 0,76] мм, що виявило статистично значуще зменшення порівняно з показниками щурів контрольної групи ($p = 0,001$, зміна на 18,7%). Це свідчить що КЕП має властивості відновлення структурних змін у серці, викликаних АІМ. Однак порівняння з іншими групами не дало значущих відмінностей ($p = 0,09$, зменшення на 9,8%), що може вказувати на те, що КЕП не є ефективнішим за кордарон (зменшення ТМПД на 9,9%, $p = 0,01$) у відновленні цих змін.

У групі щурів, які отримували КЕС, ТМПД становила 0,80 [0,77; 0,85] мм. Це також виявило статистично значуще зменшення порівняно з контрольною групою ($p = 0,006$, зміна на 12,1%), хоча порівняння зі щурами, яким вводили кордарон, не показало значущих відмінностей ($p = 0,45$). Це може свідчити про те, що ефективність КЕС не сильно відрізняється від ефективності кордарону. У групі тварин, яким вводили КС-МСК (група IV), ТМПД склала 0,72 мм [0,70; 0,77], що було на 20,9% менше від контролю ($p = 0,01$), але статистично не відрізнялося від інтактних щурів ($p = 0,14$).

Дослідження також показало зміни товщини міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС), яка є ще одним важливим показником стану серцевого м'яза (див. табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на розміри стінок лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, мм ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІМ без лікув.)	АІМ + кордарон	АІМ + КЕП	АІМ + КЕС	АІМ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Товщина міжшл. перегород. в діаст. (ТМПД), мм	0,70 [0,67; 0,75]	0,91 [0,87; 0,96] $p_2 < 0,001$ [30,0%]	0,82 [0,74; 0,86] $p_2 = 0,01$ [9,9%]	0,74 [0,72; 0,76] $p_2 = 0,001$ [18,7%] $p_3 = 0,09$ [9,8%]	0,80 [0,77; 0,85] $p_2 = 0,006$ [12,1%] $p_3 = 0,45$ [2,4%]	0,72 [0,70; 0,77] $p_2 = 0,01$ [20,9%] $p_3 = 0,14$ [2,7%]
Товщина міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС), мм	1,2±0,03 (95 % ДІ: 1,2–1,3)	1,3±0,07 (95 % ДІ: 1,2–1,5) $p_1 = 0,3$ [7,4%]	1,1±0,02 (95 % ДІ: 1,1–1,2) $p_2 = 0,03$ [13,6%]	1,3±0,02 (95 % ДІ: 1,2–1,3) $p_2 = 0,5$ [3,6%] $p_3 < 0,001$ [11,5%]	1,3±0,04 (95 % ДІ: 1,2–1,4) $p_2 = 0,7$ [2,4%] $p_3 = 0,006$ [9,6%]	1,2±0,03 (95 % ДІ: 1,2–1,3) $p_2 = 0,2$ [7,8%] $p_3 = 0,1$ [6,6%]
Товщина задньої стінки ЛШ в діастолу (ТЗСД), мм	1,0±0,02 (95 % ДІ: 1,0–1,1)	1,0±0,03 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_1 = 0,1$ [6,8%]	1,0±0,02 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_2 = 0,7$ [1,5%]	1,0±0,05 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_2 = 0,5$ [4,1%] $p_3 = 0,6$ [2,6%]	1,0±0,03 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_2 = 0,8$ [1,4%] $p_3 = 1,0$ [0,1%]	1,1±0,04 (95 % ДІ: 1,1–1,2) $p_2 = 0,002$ [19,4%] $p_3 = 0,001$ [17,7%]
Товщина задньої стінки ЛШ в систолу (ТЗСС), мм	1,5±0,03 (95 % ДІ: 1,5–1,6)	1,7±0,04 (95 % ДІ: 1,7–1,8) $p_1 = 0,001$ [13,3%]	1,8±0,03 (95 % ДІ: 1,5–1,6) $p_2 = 0,001$ [11,8%]	1,6±0,03 (95 % ДІ: 1,6–1,7) $p_2 = 0,001$ [5,9%] $p_3 = 0,05$ [6,7%]	1,6±0,03 (95 % ДІ: 1,6–1,7) $p_2 = 0,06$ [5,9%] $p_3 = 0,05$ [6,7%]	1,5±0,03 (95 % ДІ: 1,5–1,6) $p_2 = 0,001$ [11,8%] $p_3 = 1,0$ [0%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індexами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

У щурів, що не отримували лікування, ТМПС становила $1,3 \pm 0,07$ мм. У групі щурів, які отримували кордарон, цей показник зменшився до $1,1 \pm 0,02$ мм, що було статистично значущим ($p=0,03$, зміна на 13,6%), і свідчить про певну ефективність цього препарату у зменшенні гіпертрофії серцевого м'яза при АІМ (див. табл. 6.2).

У групі, яка отримувала КЕП, цей показник був $1,3 \pm 0,02$ мм, що не дало статистично значущих відмінностей від контрольної групи ($p=0,5$, зміна на 3,6%), але поступався за ефективністю кордарону, на що вказували статистично вірогідні зміни ($p<0,001$, різниця 11,5%). У групі щурів, які отримували КЕС, ТМПС становила $1,3 \pm 0,04$ мм, що також не показало статистично значущих відмінностей порівняно з контрольною групою ($p=0,7$, різниця на 2,4%).

У групі щурів, яким вводили КС-МСК, ТМПС залишалася незмінною та становила $1,2 \pm 0,03$ мм ($p=0,1$).

Проведена оцінка товщини задньої стінки ЛШ у діастолу (ТЗСД) показала, що у щурів контрольної групи вказаний показник залишалася на рівні $1,0 \pm 0,03$ мм, це вказує, що не відбулося значних змін у серцевому м'язі. У групах, які отримували лікування (кордарон, КЕП та КЕС), ТЗСД ЛШ не змінилася суттєво в порівнянні з контрольною групою. У групі щурів, які отримували КС-МСК, аналогічна товщина теж залишилася без змін на рівні $1,5 \pm 0,03$ мм ($p=1,0$). У групі тварин з АІМ, яким вводили КС-МСК, товщина задньої стінки ЛШ була більшою до $1,1 \pm 0,04$ мм ($p=0,002$), що становило 19,4% порівняно з контрольними щурами ($p=0,001$).

Що стосується товщини задньої стінки ЛШ у систолу (ТЗСС), то у щурів групи контролю цей показник статистично вірогідно ($p<0,001$) збільшився на 13,3% відносно показників інтактних щурів та становив $1,7 \pm 0,04$ мм (див. табл. 6.2). У групах, які отримували кордарон, КЕП та КЕС, ТЗСД залишалась майже на тому ж рівні, з незначними змінами. У щурів, які отримували КС-МСК, аналогічна товщина теж залишилася без змін на рівні $1,5 \pm 0,03$ мм ($p=1,0$).

Таким чином, введення кордарону та КС-МСК призвело до статистично значущих змін у товщині стінок ЛШ. Зокрема, ТМПД зменшилася у порівнянні з контрольною групою, з найбільшим зниженням у групі з КС-МСК на 20,9%. ТЗС ЛШ в діастолу була більшою на 19,4% при введенні КС-МСК, що свідчить про більш виразний ефект цього препарату порівняно з кордароном. Водночас ТЗС ЛШ в систолу зменшилася на 17,7% у групі з КС-МСК, що також підтверджує кращий вплив цього препарату на зменшення гіпертрофії ЛШ порівняно з кордароном.

Таким чином, усі досліджувані препарати мали певний вплив на розміри стінок серця у щурів з АІМ, але ефект КС-МСК був найбільш вираженим для ТМП у діастолу та ТЗС ЛШ у діастолу.

Оцінка об'ємних показників серця показала, що на 28 день експерименту в умовах АІМ у щурів спостерігались суттєві зміни в залежності від підходу до лікування (табл. 6.3).

Встановлено, що кінцево-діастолічний об'єм (КДО) у тварин контрольної групи (група II) становив $0,69 \pm 0,07$ (95 % ДІ: 0,56–0,83) мл, що на 23,5% перевищувало показники в інтактних щурів ($0,56 \pm 0,03$ мл, $p > 0,05$). Введення кордарону (група III) не призвело до статистично значущих змін і об'єм складав $0,72 \pm 0,04$ мл ($p > 0,05$), що на 4,6% більше порівняно з контролем. У групі щурів з АІМ, лікованих КС-МСК (група IV), КДО мав тенденцію до зниження та становив $0,57 \pm 0,03$ мл, що було на 17,7% менше від показників контрольної групи ($p = 0,1$), а порівняно з інтактними щурами об'єм був майже незмінним ($p = 0,1$). У групі, що отримувала КЕП, спостерігалось незначне збільшення КДО до $0,75 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,64–0,86) мл, але розбіжності також були статистично незначущими ($p > 0,05$). Група щурів, що отримувала КЕП, показала значення КДО $0,64 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,58–0,71) мл, з мінімальними змінами відносно контрольної групи ($p > 0,05$).

Встановлено, що кінцево-систолічний об'єм (КСО) у тварин контрольної групи становив $0,41 \pm 0,04$ (95 % ДІ: 0,34–0,49) мл, що на 210,3% більше ($p < 0,001$) порівняно з інтактними щурами (див. табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на об'ємні показники серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІМ без лікув.)	АІМ + кордарон	АІМ + КЕП	АІМ + КЕС	АІМ + КС-МСК
n	7	7	7	7	7	7
Кінцево-діастолічний об'єм (КДО), мл	0,56±0,03 (95 % ДІ: 0,50–0,63)	0,69±0,07 (95 % ДІ: 0,56–0,83) $p_1 > 0,05$ [23,5%]	0,72±0,04 (95 % ДІ: 0,65–0,80) $p_2 > 0,05$ [4,6%]	0,75±0,06 (95 % ДІ: 0,64–0,86) $p_2 > 0,05$ [8,3%] $p_3 > 0,05$ [7,0%]	0,64±0,03 (95 % ДІ: 0,58–0,71) $p_2 > 0,05$ [7,0%] $p_3 > 0,05$ [10,7%]	0,57±0,03 (95 % ДІ: 0,51–0,63) $p_2 = 0,1$ [17,7%] $p_3 = 0,01$ [21,3%]
Кінцево-сistolічний об'єм (КСО), мл	0,13±0,01 (95 % ДІ: 0,10–0,16)	0,41±0,04 (95 % ДІ: 0,34–0,49) $p_1 < 0,001$ [210,3%]	0,21±0,01 (95 % ДІ: 0,19–0,24) $p_2 = 0,002$ [47,8%]	0,16±0,01 (95 % ДІ: 0,14–0,18) $p_2 < 0,001$ [62,0%] $p_3 = 0,003$ [27,3%]	0,28±0,01 (95 % ДІ: 0,23–0,33) $p_2 = 0,016$ [31,7%] $p_3 = 0,035$ [30,7%]	0,14±0,01 (95 % ДІ: 0,12–0,16) $p_2 < 0,001$ [65,9%] $p_3 < 0,001$ [34,7%]
Ударний об'єм (УО), мл	0,44 [0,38; 0,47]	0,26 [0,21; 0,29] $p_1 = 0,013$ [40,8%]	0,51 [0,56; 0,54] $p_2 = 0,004$ [92,1%]	0,55 [0,53; 0,67] $p_2 = 0,001$ [108,6%] $p_3 = 0,09$ [8,6%]	0,38 [0,34; 0,43] $p_2 = 0,07$ [45,8%] $p_3 = 0,006$ [24,1%]	0,41 [0,39; 0,44] $p_2 = 0,009$ [57,3%] $p_3 = 0,03$ [24,6%]
Хвилинний об'єм (ХО), мл/хв	174 [136; 179]	117 [90; 126] $p_1 = 0,024$ [32,4%]	223 [189; 243] $p_2 = 0,006$ [90,0%]	232 [227; 313] $p_2 = 0,004$ [97,5%] $p_3 = 0,1$ [4,0%]	177 [142; 185] $p_2 = 0,05$ [50,5%] $p_3 = 0,03$ [20,8%]	170 [168; 184] $p_2 = 0,009$ [44,6%] $p_3 = 0,07$ [23,9%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами $_1, _2, _3$ вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Введення кордарону призвело до нижчого значення КСО до $0,21 \pm 0,01$ мл ($p=0,002$), що було на 47,8% менше від контролю. Група з КС-МСК показала найбільше зниження КСО до $0,14 \pm 0,01$ мл ($p<0,001$), що на 65,9% менше порівняно з контрольною групою та на 34,7% менше від показників групи кордарону ($p<0,001$).

Щури, які отримували КЕП, продемонстрували зменшення КСО до $0,16 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,14–0,18) мл, що було статистично значущим ($p<0,001$) на 62,0%. У групі, що отримувала КЕС, спостерігалось зменшення КСО до $0,28 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,23–0,33) мл, що також було статистично значущим ($p=0,016$), з розбіжністю 31,7% (див. табл. 6.3).

Ударний об'єм (УО) у щурів контрольної групи становив $0,26 [0,21; 0,29]$ мл, що було на 40,8% менше від показників інтактних щурів ($0,44 [0,38; 0,47]$ мл, $p=0,013$). У щурів, яким вводили кордарон (група ІІІ), УО значно зріс до $0,51$ мл [$0,56; 0,54$] ($p=0,004$), що на 92,1% більше від показників тварин групи контролю. В групі щурів з АІМ, які отримували КС-МСК УО склав $0,41 [0,39; 0,44]$ мл ($p=0,009$), що на 57,3% більше, ніж у тварин контрольної групи, але знижений на 24,6% порівняно з показниками щурів, яким вводили кордарон ($p=0,03$).

У групі, що отримувала КЕП, УО був ще більшим та становив $0,55 [0,53; 0,67]$ мл ($p=0,001$), що вказує на найвиразніше зростання зазначеного показника (табл. 6.3). У групі щурів з АІМ, які отримували КЕС, УО становив $0,38 [0,34; 0,43]$ мл, що залишалося нижчим за показники тварин, яким вводили як кордарон, так і КЕП, хоча різниця була незначною.

Хвилинний об'єм (ХО) у тварин групи контролю становив $117 [90; 126]$ мл/хв, що на 32,4% менше порівняно з аналогічним показником інтактних щурів ($174 [136; 179]$ мл/хв, $p=0,024$). У щурів, яких лікували кордароном (група ІІІ), ХО збільшився до $223 [189; 243]$ мл/хв ($p=0,006$), що було на 90,0% більше від показників щурів групи контролю. В групі щурів, яким вводили КС-МСК, ХО складав $170 [168; 184]$ мл/хв ($p=0,009$), що на 44,6% більше

порівняно з контролем, хоча ці зміни не були статистично вірогідними в порівнянні з показниками тварин, лікованих кордароном ($p=0,07$).

У групі щурів, що отримували КЕП, ХО зріс ($p=0,004$) на 97,5% і становив 232 [227; 313] мл/хв, що свідчить про покращення функції серця. У групі щурів з АІМ, яким вводили КЕС, ХО становив 177 [142; 185] мл/хв ($p=0,05$), що також є покращенням на 50,5%, але менш вираженим, ніж на тлі введення КЕП (див. табл. 6.3).

Таким чином встановлено, що введення КС-МСК і кордарону призвело до значного зменшення КСО та покращення УО, з найбільшим ефектом на КСО, де КС-МСК продемонстрував 65,9% зниження порівняно з показниками контрольних тварин. У групі щурів, лікованих КС-МСК, також спостерігалось зниження КДО на 17,7% та зростання ХО на 44,6% порівняно з показниками контрольних тварин, що свідчить про позитивний інотропний ефект досліджуваного біологічного препарату. Вплив на ЧСС не був статистично значущим, що може вказувати на інший механізм дії досліджуваних засобів у порівнянні з іншими серцевими параметрами.

Дослідження впливу КС-МСК та кордарону на масу міокарда та товщину стінки ЛШ серця щурів з АІМ на 28 день експерименту показало виразні зміни морфометричних параметрів серцевої тканини (рис. 6.2 та рис. 6.3).

Оцінка маси міокарда (ММ) ЛШ не показала статистично значущих змін у результаті лікування (див. рис. 6.2), що можна пояснити стабільністю цього показника в усіх експериментальних групах. У контрольних тварин маса міокарда становила $0,87 \pm 0,02$ г, що було дещо вищим, ніж у інтактних щурів ($0,82 \pm 0,01$ г), однак різниця не була статистично значущою ($p > 0,05$). У щурів, які отримували кордарон та КС-МСК, маса міокарда залишалась на тому ж рівні, що і в контрольній групі – $0,87 \pm 0,02$ г та $0,87 \pm 0,03$ г відповідно, що також не призвело до значних змін порівняно з інтактними тваринами ($p > 0,05$). Це свідчить про те, що лікування дозволяло зберігати структуру міокарда, не спричиняючи додаткових морфологічних змін (див. рис. 6.2).

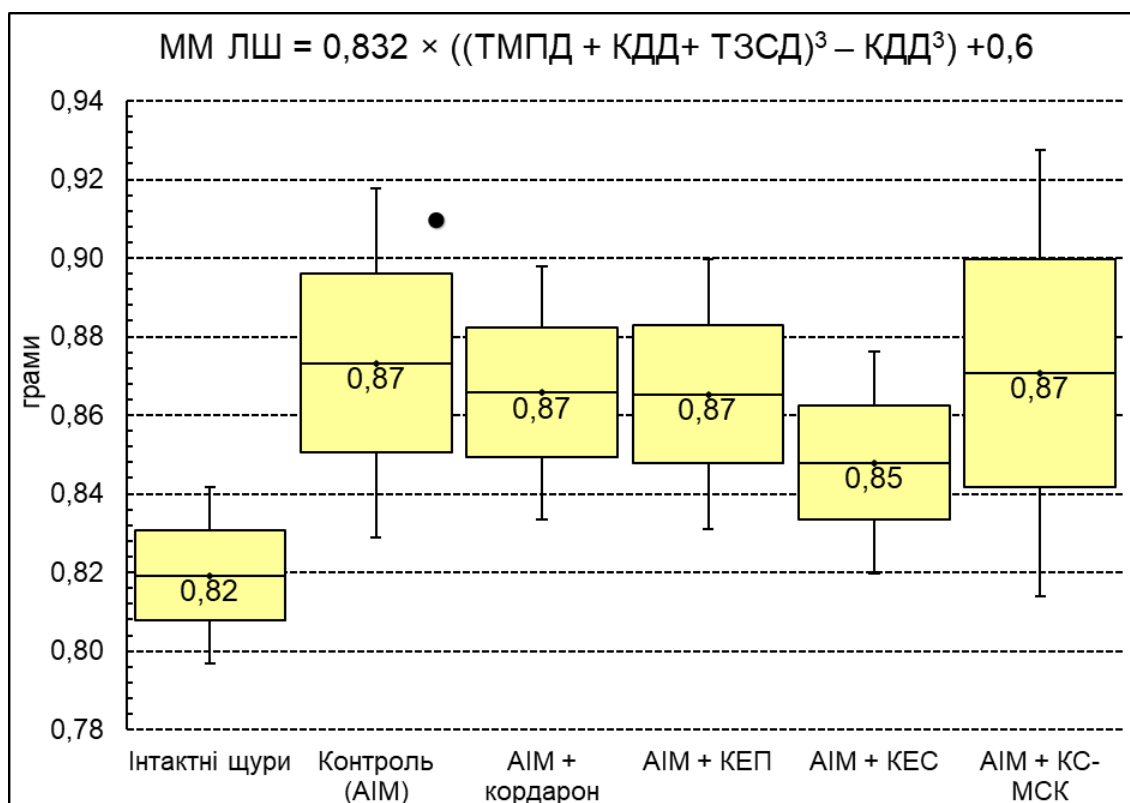


Рис. 6.2 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на масу міокарда лівого шлуночка (ММ ЛШ) щурів з АІМ (за Devereux R.B. [598])

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.

У щурів з АІМ без лікування спостерігалася зменшена товщина стінки ЛШ, яка становила $0,29 \pm 0,01$ мм (рис. 6.3). Цей показник був на 12,0% менший порівняно з інтактними щурами ($0,33 \pm 0,01$ мм, $p=0,04$). У щурів, що отримували кордарон, цей показник залишався майже незмінним та становивши $0,29 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,27–0,30) мм. Подібні результати були отримані і в групі щурів, які отримували КЕП: ВТС ЛШ становила $0,29 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,27–0,31) мм, що не відрізнялося від значень тварин контрольної групи ($p=0,9$). У групі щурів, які отримували КЕС, ВТС ЛШ становила

0,30±0,01 (95% ДІ: 0,28–0,31) мм, що знову ж таки не демонструвало суттєвих змін порівняно з іншими групами (див. рис. 6.3).

Натомість, застосування КС-МСК призвело до значного збільшення товщини стінки ЛШ до 0,37±0,01 мм, що було на 25,2% більше порівняно з показниками тварин контрольної групи ($p < 0,001$). Це свідчить про позитивний вплив КС-МСК на структурні зміни в серцевій стінці, спричинені АІМ.

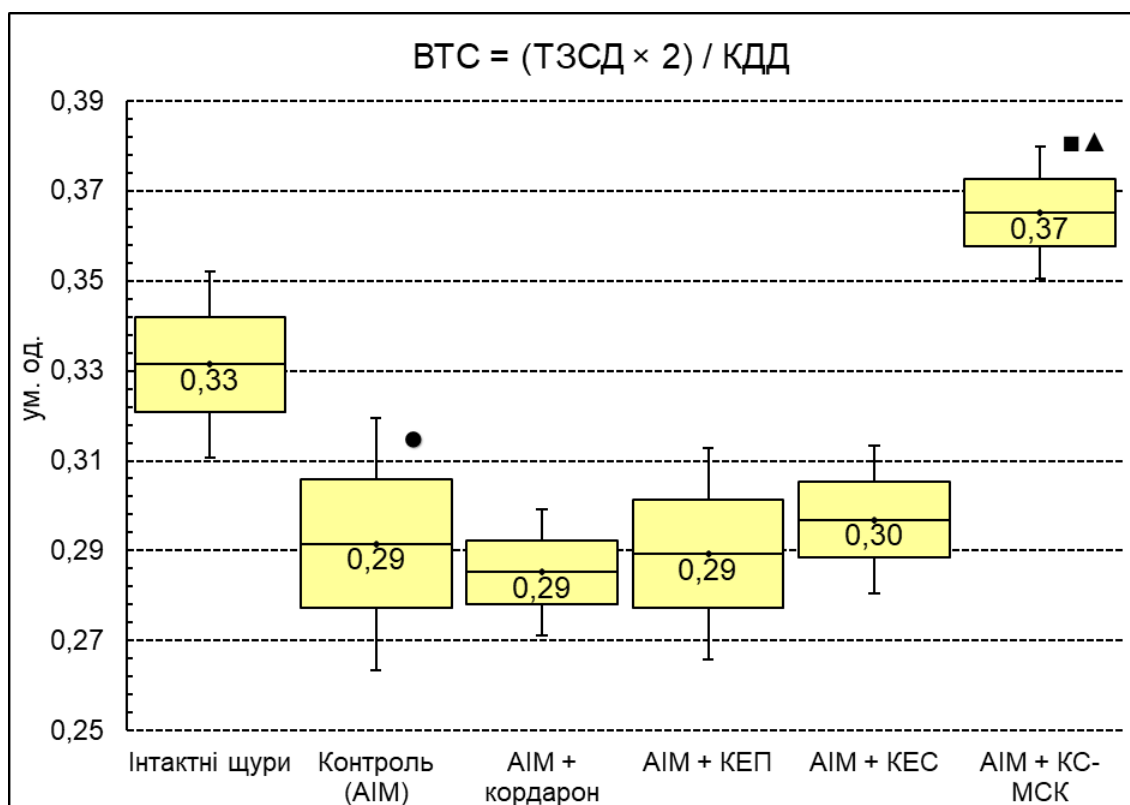


Рис. 6.3 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на відносну товщину стінки ЛШ (BTC) щурів з АІМ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІМ (контрольна група);
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІМ, яким вводили кордарон.

Таким чином, хоча маса міокарда залишалась незмінною, застосування КС-МСК призвело до значного зменшення ВТС ЛШ, що вказує на покращення структурних параметрів серця при АІМ.

Оцінка впливу БКБЗ, а також кордарону на показники скоротливої функції міокарда ЛШ серця щурів з АІМ на 28 день експерименту показала (табл. 6.4) що систолічне потовщення міжшлуночкової перегородки (СПМШП) у інтактних щурів становило 76,0 [67,6; 80,1]%. Це значення свідчить про достатню роботу серцевого м'яза, зокрема про адекватну скоротливу функцію міжшлуночкової перегородки.

У контрольній групі (АІМ без лікування), показник СПМШП знизився до 44,0 [36,2; 47,0]%, що вказує на серйозне порушення скоротливості міжшлуночкової перегородки, характерне для міокардиту. Різниця між групами I та II є статистично значущою ($p=0,001$), і втрата 42,2% потовщення є значним порушенням, яке супроводжує змодельований АІМ (див. табл. 6.4).

У щурів, які отримували кордарон, СПМШП зросло до 34,1 [32,5; 55,0]%, але все ж таки залишалося значно зниженим у порівнянні з показниками інтактних щурів. Порівняння з контрольними щурами не виявило статистично значущих змін ($p=0,5$), що свідчить про відсутність вираженого ефекту від застосування кордарону.

У щурів з АІМ, яким вводили КЕП, відмічено статистично вірогідне ($p=0,002$) зростання на 59,9% показника СПМШП до 70,0 [67,2; 80,3]%. У щурів з АІМ, що отримували КЕС, СПМШП становило 54,2 [50,8; 65,7]%, що на 23,3% статистично вірогідно ($p=0,013$) перевищувало показники щурів контрольної групи (див. табл. 6.4). У щурів, що отримували КС-МСК, спостерігалось значне підвищення – 64,8 [57,2; 71,5], що на 47,4% більше, ніж у контрольній групі ($p=0,03$). Однак цей показник був ще далеким від рівня інтактних щурів, хоча поліпшення було виразним (див. табл. 6.4).

Оцінка впливу БКБЗ та кордарону на систолічне потовщення задньої стінки ЛШ (СПЗСШ) показала, що на тлі розвитку АІМ зазначений показник зріс до 82,8 [75,5; 90,6]% (див. табл. 6.4).

Таблиця 6.4

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка серця щурів з щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, % ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІМ без лікув.)	АІМ + корадрон	АІМ + КЕП	АІМ + КЕС	АІМ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
% сист. потовщ. міжшлуночкової перегородки (СПМШП)	76,0 [67,6; 80,1]	44,0 [36,2; 47,0] $p_1=0,001$ [42,2%]	34,1 [32,5; 55,0] $p_2=0,5$ [22,3%]	70,0 [67,2; 80,3] $p_2=0,002$ [59,9%] $p_3=0,009$ [105,8%]	54,2 [50,8; 65,7] $p_2=0,013$ [23,3%] $p_3=0,06$ [58,7%]	64,8 [57,2; 71,5] $p_2=0,03$ [47,4%] $p_3=0,09$ [89,7%]
% сист. потовщ. задньої стінки ЛШ (СПЗСШ)	50,0 [47,7; 50,0]	82,8 [75,5; 90,6] $p_1=0,006$ [65,6%]	54,6 [54,6; 57,2] $p_2=0,013$ [34,0%]	63,4 [50,5; 65,1] $p_2=0,042$ [23,5%] $p_3=0,17$ [16,0%]	66,7 [66,7; 71,4] $p_2=0,02$ [19,5%] $p_3=0,018$ [22,0%]	32,3 [24,2; 42,9] $p_2=0,002$ [61,0%] $p_3=0,002$ [40,9%]
Фракція вкорочення (ФВк)	40,4 $\pm$ 1,6 (95 % ДІ: 37,3–43,5)	17,4 $\pm$ 1,3 (95 % ДІ: 14,8–20,1) $p_1<0,001$ [56,8%]	35,1 $\pm$ 0,6 (95 % ДІ: 33,9–36,2) $p_2<0,001$ [101,1%]	42,9 $\pm$ 1,0 (95 % ДІ: 40,7–44,5) $p_2<0,001$ [144,2%] $p_3<0,001$ [21,5%]	25,6 $\pm$ 2,9 (95 % ДІ: 20,0–31,2) $p_2=0,02$ [46,8%] $p_3=0,007$ [41,0%]	39,2 $\pm$ 1,3 (95 % ДІ: 36,7–41,8) $p_2<0,001$ [39,9%] $p_3=0,01$ [11,9%]
Фракція викиду (ФВ)	75,8 [74,0; 79,1]	37,2 [35,0; 46,2] $p_1<0,001$ [50,8%]	69,5 [68,9; 71,7] $p_2<0,001$ [86,5%]	80,1 [77,0; 81,0] $p_2<0,001$ [115,1%] $p_3<0,001$ [15,3%]	60,4 [55,1; 62,0] $p_2=0,01$ [62,1%] $p_3=0,001$ [13,1%]	75,8 [75,2; 78,0] $p_2<0,001$ [103,4%] $p_3=0,01$ [9,0%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індexами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Зазначені показники слугують підтвердженням компенсаторних змін у ЛШ. Ці зміни є статистично значущими ($p=0,006$), і приріст у 65,6% вказує на значне погіршення скоротливої функції серця (див. табл. 6.4).

У групі щурів, що отримували кордарон, показник СПЗСШ знизився до 54,6 [54,6; 57,2]%, що є покращенням порівняно з контролем, але результат залишався нижчим від нормальних значень. Різниця з контрольною групою була статистично значущою ($p=0,013$), що свідчить про позитивний, хоча й помірний ефект кордарону.

Щури, які отримували КЕП, показали ще більше покращення – 63,4 [50,5; 65,1]%, що вказує на значне поліпшення стану задньої стінки ЛШ. Різниця з контрольними щурами була статистично значущою ($p=0,042$), хоча ефект був менш вираженим порівняно з групою, що отримувала кордарон.

У групі щурів, що отримували КЕС, СПЗСШ становив 66,7 [66,7; 71,4]%, що є співставним з аналогічним показником у щурів, яким вводили КЕП.

Лікування КС-МСК виявило значне покращення, вказаний показник становив 32,3 [24,2; 42,9], що на 61,0% менше порівняно з контрольними щурами ($p=0,002$), і значно наблизився до показника інтактних щурів, хоча все ще, не досяг їх рівня ($p=0,002$).

Одним з найважливіших показників, що характеризує здатність міокарда до скорочення виступає фракція вкорочення. У інтактних щурів цей показник становив $40,4 \pm 1,6\%$ (95% ДІ: 37,3–43,5)%. У тварин контрольної групи фракція вкорочення значно знизилася до $17,4 \pm 1,3\%$ (95% ДІ: 14,8–20,1)%, що є прямим наслідком АІМ. Зниження на 56,8% є серйозним порушенням серцевої функції.

У групі щурів, які отримували кордарон, фракція вкорочення становила $35,1 \pm 0,6\%$ (95% ДІ: 33,9–36,2)%, що є значним покращенням порівняно з контрольною групою. Це поліпшення на 101,1% було статистично значущим ($p<0,001$), що вказує на позитивний вплив кордарону на скоротливу функцію серця, навіть якщо він не досяг рівня інтактних щурів (див. табл. 6.4).

У тварин, які отримували КЕП, фракція вкорочення становила $42,9 \pm 1,0\%$ (95% ДІ: 40,7–44,5)%, що на 144,2% статистично вірогідно ($p < 0,001$) перевищувало показники тварин з АІМ без лікування. У групі щурів, які отримували КЕС, фракція вкорочення була $25,6 \pm 2,9\%$ (95% ДІ: 20,0–31,2)%, що на 46,8% статистично вірогідно ($p = 0,02$) перевищувало показники тварин контрольної групи (див. табл. 6.4).

Введення КС-МСК мало ще більш виразний позитивний ефект, ФВк підвищилась до $39,2 \pm 1,3\%$ ($p < 0,001$), що на 39,9% більше, ніж у контрольних щурів, та значно покращило скоротливу здатність міокарда (див. табл. 6.4).

Іншим важливим показником, який визначає ефективність роботи серця у забезпеченні кровообігу, виступає фракція викиду. У щурів з АІМ фракція викиду значно знизилась до $37,2 [35,0; 46,2]\%$, що є наслідком порушення скоротливої функції серцевого м'яза через запальні процеси. Зниження цього показника на 50,8% ($p < 0,001$) є суттєвим і вказує на тяжке порушення насосної функції серця.

У щурів, які отримували кордарон, фракція викиду зросла до $69,5 [68,9; 71,7]\%$, що є значним поліпшенням порівняно з контрольною групою. Це свідчить про певний рівень відновлення функції серця за допомогою кордарону, причому приріст на 86,5% є статистично значущим ($p < 0,001$). Проте, хоча кордарон має позитивний вплив на серце, його ефект не досягає рівня значень інтактних тварин, що може вказувати на необхідність додаткового лікування для досягнення повного відновлення.

У групі щурів, що отримували КЕП, фракція викиду підвищилась до $80,1 [77,0; 81,0]\%$. Виявлене зростання вказаного показника на 115,1% було статистично значущим ($p < 0,001$) і свідчить про значне відновлення насосної функції серця після АІМ. У щурів, які отримували КЕС, фракція викиду становила $60,4 [55,1; 62,0]\%$, що на 62,1% ($p = 0,01$) перевищувало показники тварин з АІМ без лікування (див. табл. 6.4).

Таким чином, КЕП значно покращує всі показники скоротливої функції міокарда ЛШ, зокрема фракцію викиду та систолічне потовщення стінок.

Покращення на 144,2% у фракції вкорочення і на 115,1% у фракції викиду вказує на високу ефективність цього лікування при АІМ, що робить КЕП перспективним для подальших досліджень і клінічного застосування.

Хоча КЕС також продемонстрував позитивний вплив на серцеву функцію, результати були менш вираженими порівняно з КЕП. Однак це не знижує потенціалу КЕС, оскільки ефект від його використання все ж є статистично значущим і потребує подальших досліджень для оптимізації дозування і режиму лікування.

Застосування КС-МСК забезпечило повне відновлення зазначеного показника до рівня інтактних щурів – 75,8 [75,2; 78,0] ($p < 0,001$), що на 103,4% більше від контрольних щурів і свідчить про відновлення нормальної функції міокарда після лікування.

Загалом, результати дослідження свідчать про ефективність КС-МСК у покращенні показників скоротливої функції міокарда ЛШ у щурів з АІМ. Лікування КС-МСК забезпечило значне покращення усіх основних параметрів, таких як систолічне потовщення стінок ЛШ, ФВк та ФВ, наближаючи їх до нормальних рівнів, що підкреслює потенціал цього біотехнологічного препарату для лікування серцевої недостатності в умовах АІМ.

6.2 Оцінка антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу в тканинах серця при введенні БКБЗ на моделі АІМ

Рекрутування запальних клітин визначають як одну з найважливіших характеристик АІМ, що супроводжується зниженням скоротливої функції серця. Повний механізм АІМ з'ясований не до кінця, але підвищене вивільнення медіаторів запалення та окислювальний стрес є важливими факторами захворювання [650].

Дослідження показало, що на 28 день експерименту у щурів зі змодельованим АІМ відмічалась активація ПОЛ, на що вказувало статистично

вірогідне ($p < 0,001$) підвищення вмісту ТБК-РП у тканинах серця на 56,9% відносно показників інтактних щурів, що становило відповідно $16,2 \pm 0,9$ мкмоль/кг тканини (табл. 6.5). Порушення окислювально-відновного гомеостазу спричинені накопиченням окислювальних молекул через надмірне вироблення або втрату здатності клітин до відновлення. Перекиси ліпідів проявляють свою токсичну дію за допомогою двох основних механізмів. Оскільки ліпіди відповідають за підтримку цілісності клітинних мембран, інтенсивне ПОЛ змінює склад, структуру та динаміку ліпідних мембран. Пероксиди ліпідів, як високореактивні сполуки, також здатні поширювати подальше утворення активних форм кисню або розкладатися на реакційноздатні сполуки, здатні зшивати ДНК і білки, змінюючи таким чином їх структуру, активність і фізичні властивості [651].

Встановлено, що гіперактивація ПОЛ у тканинах міокарда та тлі АІМ супроводжувалась виснаженням компенсаторних механізмів, на що вказувало зниження активності каталази на 34,2% відносно показників інтактних тварин (див. табл. 6.5). Каталаза є добре вивченим ферментом, який відіграє важливу роль у захисті клітин від токсичної дії перекису водню [652].

Зниження активності каталази та підвищення вмісту ТБК-РП призвели до статистично вірогідного ($p = 0,03$) зниження значенні АПІ на 59,3% відносно показників інтактних щурів, що становило відповідно $11,4 \pm 1,5$ од. Введення досліджуваних БКБЗ призвело до статистично вірогідного зниження вмісту ТБК-РП у тканинах міокарда щурів зі змодельованим АІМ, що перевищувало за ефективністю референс-препарат кордарон, досліджуваний показник на тлі застосування якого знизився на 12,4% відносно показників нелікованих тварин (див. табл. 6.5). За здатністю пригнічувати ПОЛ у міокарді (за значенням вмісту ТБК-РП відносно показників нелікованих тварин) досліджувані біологічні препарати можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (32,7%) > КЕС (29,2%) > КЕП (23,9%).

Таблиця 6.5

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІМ без лікув.)	АІМ + кордарон	АІМ + КЕП	АІМ + КЕС	АІМ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Вміст ТБК-РП, мкмоль / кг тканини	10,3±0,6 (95 % ДІ: 9,2–11,4)	16,2±0,9 (95 % ДІ: 14,4–17,9) $p_1<0,001$ [56,9%]	14,1±1,2 (95 % ДІ: 11,9–16,4) $p_2=0,2$ [12,4%]	12,3±1,1 (95 % ДІ: 10,2–14,4) $p_2<0,001$ [23,9%] $p_3=0,2$ [13,1%]	11,4±0,8 (95 % ДІ: 9,8–13,0) $p_2=0,002$ [29,2%] $p_3=0,08$ [19,2%]	10,9±0,7 (95 % ДІ: 9,5–12,2) $p_2<0,001$ [32,7%] $p_3=0,03$ [23,2%]
Активність каталази, мкат / кг тканини	2,7±0,5 (95 % ДІ: 1,7–3,8)	1,8±0,2 (95 % ДІ: 1,4–2,1) $p_1=0,1$ [34,2%]	2,1±0,2 (95 % ДІ: 1,7–2,6) $p_2=0,3$ [20,0%]	2,1±0,3 (95 % ДІ: 1,6–2,7) $p_2=0,1$ [20,0%] $p_3=1$ [0%]	2,0±0,3 (95 % ДІ: 1,4–2,6) $p_2=0,6$ [12,0%] $p_3=0,7$ [6,7%]	2,5±0,2 (95 % ДІ: 2,1–2,9) $p_2=0,03$ [40,0%] $p_3=0,3$ [16,7%]
Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ)	28,0±6,0 (95 % ДІ: 16,3–39,8)	11,4±1,5 (95 % ДІ: 8,5–14,3) $p_1=0,03$ [59,3%]	16,2±2,5 (95 % ДІ: 11,3–21,2) $p_2=0,1$ [42,2%]	18,9±3,4 (95 % ДІ: 12,2–25,6) $p_2=0,1$ [65,7%] $p_3=0,5$ [16,5%]	17,1±2,0 (95 % ДІ: 13,1–21,1) $p_2=0,04$ [49,9%] $p_3=0,8$ [5,4%]	22,8±0,9 (95 % ДІ: 21,0–24,6) $p_2<0,001$ [100%] $p_3=0,03$ [40,6%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Дослідження активності каталази у тканинах міокарда щурів з АІМ показало, що на 28 день експерименту у щурів, яким вводили кордарон, та у щурів, яким вводили КЕП, відмічалось рівнозначне підвищення активності досліджуваного антиоксидантного ферменту на 20,0% відносно показників тварин контрольної групи (див. табл. 6.5).

Введення КЕС проявляло нижчу здатність до підтримки активності каталази у тканинах міокарда. Найвиразніші антиоксидантні властивості відмічені на тлі введення КС-МСК. Так, активність каталази у щурів з АІМ, яким вводили КС-МСК, статистично вірогідно ($p=0,03$) зросла на 40,0% відносно показників тварин контрольної групи та становила $2,5 \pm 0,2$ мкат/кг тканини (див. табл. 6.5).

Отримані нами експериментальні дані узгоджуються з висновками **Stavely R. та співавт.** (2020 р.) [653], що МСК проявляють антиоксидантні властивості в різних тваринних моделях захворювань. Антиоксидантні ефекти МСК включають пряме поглинання вільних радикалів, стимулювання ендogenous антиоксидантного захисту, імуномодуляцію через пригнічення активних форм кисню, зміну мітохондріальної біоенергетики та передачу функціональних мітохондрій пошкодженим клітинам. Модуляція окислювально-відновного середовища та окислювального стресу за допомогою МСК може опосередковувати їх протизапальні та цитопротекторні властивості та може запропонувати пояснення різноманітності моделей захворювань, що піддаються лікуванню за допомогою МСК, і того як ці механізми можуть зберігатися між видами.

Інтегральна оцінка антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах серця на моделі АІМ показала, що досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби за виразністю зростання АПІ відносно показників тварин контрольної групи (АІМ без лікування) можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (+100,0%) > КЕП (+65,7%) > КЕС (+49,9%).

Висновки до розділу 6

1. На тлі розвитку АІМ у щурів відмічено статистично вірогідне збільшення ($p < 0,001$) на 47,0% кінцево-сistolічного діаметра лівого шлуночка (КСД) до $5,5 \pm 0,17$ мм, що вказувало на виражену дилатацію серця. Товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД) збільшилася на 30,0% порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,001$), що свідчить про гіпертрофію серцевого м'яза в результаті запалення при АІМ. Також спостерігалось зниження відносної товщини стінки лівого шлуночка (ВТС) на 12,0% ($p = 0,04$), що вказує на структурні зміни в серцевому м'язі. Об'ємні показники, такі як кінцево-діастолічний об'єм (КДО) та кінцево-сistolічний об'єм (КСО), показали тенденцію до збільшення ($p > 0,05$), що свідчить про дилатацію лівого шлуночка при АІМ без лікування.
2. Встановлено, що у тварин з АІМ без лікування спостерігалось значне зниження основних функціональних показників серця. УО знизився до 0,26 [0,21; 0,29] мл ($p = 0,013$), ХО зменшився на 32,4%, до 117 [90; 126] мл/хв ($p = 0,024$). ВТС ЛШ знизилась на 12,0% до $0,29 \pm 0,01$ мм ($p = 0,04$). Фракція вкорочення знизилась до $17,4 \pm 1,3\%$ ($p < 0,001$), а фракція викиду знизилась до 37,2 [35,0; 46,2]% ($p < 0,001$), що вказує на серйозні порушення скоротливої функції міокарда через запальний процес.
3. Результати дослідження підтверджують ефективність КС-МСК у корекції структурних та функціональних порушень серця у щурів з АІМ. Лікування КС-МСК сприяло значному зменшенню товщини міжшлуночкової перегородки та задньої стінки ЛШ, що вказує на зменшення гіпертрофії м'язової тканини серця. Кінцево-діастолічний об'єм та кінцево-сistolічний об'єм також знизилися, відновлюючи нормальну скоротливу функцію серця. Показники фракції викиду та фракції вкорочення в групі КС-МСК наблизилися до рівня інтактних щурів. У порівнянні з кордароном, КС-МСК продемонстрував більш

виражене покращення в усіх показниках функціональної активності серця, зокрема у відновленні скоротливості міокарда та зменшенні гіпертрофії, що робить його перспективним для терапії у хворих на АІМ.

4. Введення КЕП сприяло зниженню товщини міжшлуночкової перегородки (ТМПД) на 18,7% порівняно з контролем ($p=0,001$), що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін серця при АІМ. Варто зазначити, що ефективність КЕП перевищувала ефект кордарону, де зменшення ТМПД склало 9,9% ($p=0,01$). Застосування КЕС призвело до статистично значущого зменшення ТМПД на 12,1% порівняно з контролем ($p=0,006$), що дозволяє розглядати КЕС як альтернативний препарат.
5. Лікування КЕП знизило кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка (КСО) на 62,0% ($p<0,001$), що є значним зменшенням дилатації серця, підтверджуючи ефективність КЕП у поліпшенні функціональних показників серця при АІМ. Це свідчить про виражений кардіопротекторний ефект КЕП.
6. При застосуванні КЕС спостерігалось зменшення КСО на 31,7% ($p=0,016$), що свідчить про значне покращення функції лівого шлуночка. Цей ефект є менш вираженим, ніж при застосуванні КЕП, але все ж статистично значущим, що підтверджує терапевтичний потенціал КЕС при АІМ.
7. Застосування КЕП у щурів з АІМ сприяло значному покращенню функціональних показників серця: УО підвищився до 0,55 [0,53; 0,67] мл ($p=0,001$), ХО зріс на 97,5%, до 232 [227; 313] мл/хв ($p=0,004$). ВТС залишилась на рівні щурів контрольної групи ($0,29\pm0,01$ мм, $p=0,9$). Фракція вкорочення підвищилась до $42,9\pm1,0\%$ ($p<0,001$), а фракція викиду збільшилась до 80,1 [77,0; 81,0]% ($p<0,001$), що свідчить про значне відновлення насосної функції серця після АІМ.

8. Введення КЕС також сприяло покращенню функції серця у щурів з АІМ, хоча ефект був менш виражений порівняно з КЕП. УО у групі, що отримувала КЕС, становив $0,38 [0,34; 0,43]$ мл, що було нижчим за показники КЕП ($p=0,001$). ХО збільшився на 50,5%, до $177 [142; 185]$ мл/хв ($p=0,05$). ВТС ЛШ не змінився суттєво ($0,30 \pm 0,01$ мм, $p=0,7$). Фракція вкорочення підвищилась до $25,6 \pm 2,9\%$ ($p=0,02$), а фракція викиду становила $60,4 [55,1; 62,0]\%$ ($p=0,01$), що свідчить про покращення, хоча й менше, ніж у групі КЕП.
9. Моделювання аутоімунного міокардиту у щурів призводить до активації перекисного окислення ліпідів та виснаження антиоксидантної системи в тканинах міокарда, на що вказувало підвищення вмісту ТБК-РП на 56,9% ($p<0,001$) та зниження активності каталази на 34,2% ($p=0,1$). Застосування БКБЗ супроводжувалось відновленням функціонування АОС у тканинах міокарда на тлі АІМ. За значенням інтегрального показника стану антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах серця досліджувані терапевтичні агенти розташувались у такій послідовності: КС-МСК ($22,8 \pm 0,9$) > КЕП ($18,9 \pm 3,4$) > КЕС ($17,1 \pm 2,0$) > кордарон ($16,2 \pm 2,5$).

Основні положення цього розділу викладено у 10 публікаціях автора [40, 48, 49, 55, 65, 66, 74, 85, 86, 89].

РОЗДІЛ 7

ОЦІНКА НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО НЕФРИТУ

У розділі представлені результати дослідження нефропротекторної активності КЕП, КЕС та КС-МСК у порівнянні з референс-препаратом канефроном на тлі АІН у щурів. Встановлено, що досліджувані БКБЗ сприяють відновленню функціональної активності нирок, що виявляється через зростання ШКФ та зниження концентрації креатиніну й сечовини у крові. За виразністю нефропротекторного ефекту БКБЗ можна розташувати в такому порядку: КС-МСК > КЕС > КЕП. Окрім цього, препарати ефективно знижували рівень протеїнурії, відновлювали кліренс креатиніну та нормалізували вміст ейкозаноїдів у тканинах нирок. Найбільш виражений ефект щодо нормалізації активності iNOS та cNOS спостерігався при застосуванні КС-МСК. Отримані результати свідчать про високу терапевтичну ефективність БКБЗ у лікуванні АІН.

7.1 Функціональний стан нирок при експериментальному аутоімунному нефриті Хеймана на тлі введення БКБЗ

Встановлено, що на 70 день експерименту у щурів з АІН відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження об'єму добового діурезу на 47,2% відносно показників інтактних щурів, що становило $3,7 \pm 0,2$ мл/добу і узгоджувалось з [563]. Об'ємні показники добового діурезу у щурів з АІН відновлювались на тлі застосування канефрону та статистично вірогідно ($p < 0,001$) вдвічі перевищували показники тварин групи контролю (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на окремі показники видільної функції нирок у щурів з АІН на 70 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІН без лікув.)	АІН + канефрон	АІН + КЕП	АІН + КЕС	АІН + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Добовий діурез, мл/1440 хв.	7,0±0,3 (95 % ДІ: 6,4–7,5)	3,7±0,2 (95 % ДІ: 3,3–4,1) $p_1 < 0,001$ [47,2%]	7,6±0,4 (95 % ДІ: 6,8–8,7) $p_2 < 0,001$ [107,8%]	7,9±0,4 (95 % ДІ: 7,0–8,8) $p_2 < 0,001$ [114,8%] $p_3 = 0,7$ [3,4%]	7,0±0,3 (95 % ДІ: 6,5–7,6) $p_2 < 0,001$ [91,1%] $p_3 = 0,2$ [5,1%]	7,4±0,5 (95 % ДІ: 6,4–8,3) $p_2 < 0,001$ [101,2%] $p_3 = 0,7$ [3,2%]
Концентрація сечовини в крові, ммоль/л	5,1±0,6 (95 % ДІ: 3,9–6,4)	17,1±0,9 (95 % ДІ: 15,4–18,9) $p_1 < 0,001$ [233,3%]	8,9±0,7 (95 % ДІ: 7,5–10,2) $p_2 < 0,001$ [48,3%]	9,3±0,9 (95 % ДІ: 7,6–11,0) $p_2 < 0,001$ [45,8%] $p_3 = 0,7$ [4,8%]	10,1±1,0 (95 % ДІ: 8,2–12,1) $p_2 < 0,001$ [40,8%] $p_3 = 0,3$ [14,5%]	6,7±0,8 (95 % ДІ: 5,1–8,4) $p_2 < 0,001$ [60,8%] $p_3 = 0,1$ [24,2%]
Концентрація креатиніну в крові, мкмоль/л	69,4±2,6 (95 % ДІ: 64,4–74,4)	146,7±7,1 (95 % ДІ: 132,7–160,7) $p_1 < 0,001$ [111,3%]	114,9±4,1 (95 % ДІ: 106,8–123,0) $p_2 < 0,01$ [21,7%]	122,0±4,1 (95 % ДІ: 113,9–130,1) $p_2 = 0,01$ [16,8%] $p_3 = 0,3$ [6,2%]	114,4±6,1 (95 % ДІ: 102,5–126,4) $p_2 < 0,01$ [22,0%] $p_3 = 0,9$ [0,4%]	90,7±2,7 (95 % ДІ: 85,5–96,0) $p_2 < 0,001$ [38,2%] $p_3 < 0,001$ [21,0%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Біохімічні дослідження крові показали, що на тлі зниження добового діурезу у щурів з АІН відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання концентрації креатиніну на 111,3% та зростання вмісту сечовини на 233,3% відносно показників інтактних щурів (див. табл. 7.1). Як відомо, креатинін, як метаболіт фосфокреатину, дифундує з різних тканин у кров. За фізіологічних умов він постійно виводиться нирками. Порушення клубочкової фільтрації призводить до підвищення рівня креатиніну в плазмі. В свою чергу сечовина виробляється печінкою та виводиться нирками. Подібно до креатиніну, підвищення рівня сечовини в плазмі слугує показником зміненої функції нирок [654].

За здатністю знижувати концентрацію креатиніну в крові КЕС співставлявся за ефективністю з референс-препаратом канефроном. Вказаний показник статистично вірогідно ($p < 0,01$) знизився відповідно на 22,0% на тлі введення КЕП та на 21,7% на тлі введення канефрону (див. табл. 7.1).

Найвиразніше відновлення функціонального стану нирок щурів встановлено на тлі застосування КС-МСК. Дослідження показало, що введення КС-МСК тваринам зі змодельованим нефритом Хеймана призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження концентрації креатиніну та сечовини в крові відповідно на 38,2% та 60,8% (див. табл. 7.1). Вказані зміни призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зростанні ШКФ у щурів на тлі введення КС-МСК на 155,3% відносно показників щурів контрольної групи, що на 51,2% статистично вірогідно ($p = 0,002$) перевищувало аналогічні ефекти референс-препарату канефрону.

Порушення фільтраційної функції нирок у щурів зі змодельованим нефритом Хеймана знайшло своє відображення у показниках ШКФ, які було розраховано за методикою *Besseling P.J. та співавт. (2021 р.)* [574]. Розрахунки показали, що у щурів з АІН відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження ШКФ на 74,2% відносно показників інтактних щурів, що становило відповідно 355 ± 21 (95% ДІ: 294–376) мкл/хв та 1299 ± 108 (95% ДІ: 1088–1510) мкл/хв (рис. 7.1).

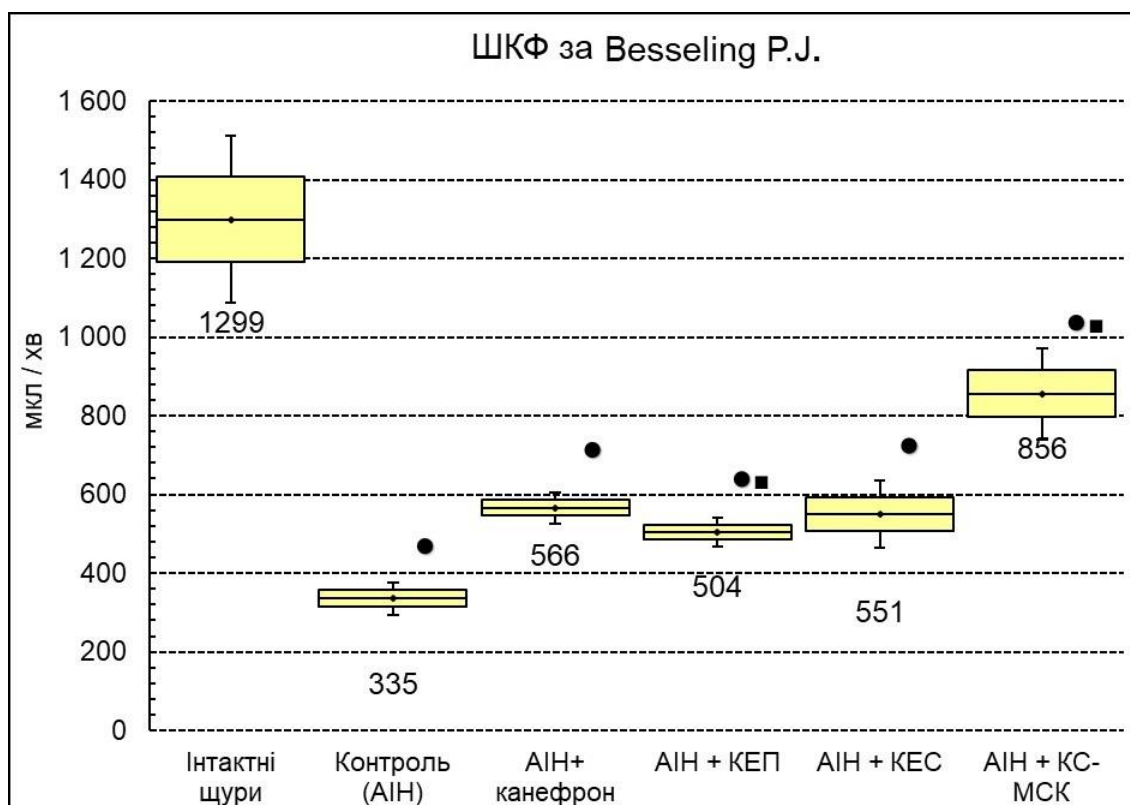


Рис. 7.1 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на ШКФ у щурів з АІН за Besseling P.J.

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІН без лікування.

На тлі застосування референс-препарату канефрону рівень ШКФ статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 68,8% відносно показників щурів контрольної групи та становив 566 ± 20 (95% ДІ: 527–605) мкл/хв, що було зумовлено статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням концентрації сечовини в крові на 45,8% та вмісту креатиніну на 21,7% відносно показників тварин з АІН без лікування (див рис. 7.1).

На тлі застосування КЕП відмічалось найнижче зниження концентрації креатиніну в крові ($p=0,01$) – 16,8% (див. табл. 7.1). В той же час, застосування вказаного кріоекстракту призвело до співставного з референс-препаратом зниження концентрації сечовини в крові на 45,8% ($p<0,001$) і становило відповідно $9,3\pm0,9$ ммоль/л. Вказане зниження концентрації креатиніну та сечовини у щурів з АІН на тлі введення КЕП зумовило зростання ШКФ на 50,5% ($p<0,001$) відносно показників нелікованих щурів контрольної групи (див рис. 7.1). Варто зазначити що на тлі введення КЕП щурам зі змодельованим АІН, відмічалось статистично вірогідне ($p<0,001$) збільшення добового діурезу на 114,8% відносно показників щурів контрольної групи, які становили $7,9\pm0,4$ (95% ДІ: 7,0–8,8) мл/1440 хв (див. табл. 7.1). Отримані дані вказують на наявність діуретичного ефекту у зазначеного кріоекстракту на тлі АІН у щурів.

Отримані результати дослідження узгоджувались з літературними даними про наявність нефропротекторних властивостей у КЕП. Так, у роботах **Рєпіна М.В. та співавт.** [655] встановлено відновлення кровотоку в корі нирки та призупинення запальних процесів у нирковій інтерстиції на тлі розвитку хронічної ниркової недостатності.

Застосування КЕС у щурів з АІН чинило співставні за виразністю з канефроном нефропротекторні властивості, на що вказувало статистично вірогідне ($p=0,002$) зростання ШКФ на 64,3% (551 ± 43 мкл/хв) відносно показників щурів групи контролю (див. табл. 7.1). Привертає увагу, що застосування КЕС не проявляло діуретичного ефекту, на що вказував показник добового діурезу ($7,0\pm0,3$ (95%ДІ: 7,0–8,8) мл/добу), який співставлявся з показниками інтактних щурів ($7,0\pm0,3$ (95% ДІ: 6,4–7,5) мл/добу).

За здатністю знижувати концентрацію креатиніну в крові КЕС співставлявся за ефективністю з референс-препаратом канефроном. Вказаний показник статистично вірогідно ($p<0,01$) знизився відповідно на 22,0% на тлі введення КЕС та на 21,7% на тлі введення канефрону (див. табл. 7.1).

Найвиразніше відновлення функціонального стану нирок щурів встановлено на тлі застосування КС-МСК. Дослідження показало, що введення КС-МСК тваринам зі змодельованим нефритом Хеймана призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження концентрації креатиніну та сечовини в крові відповідно на 38,2% та 60,8% (див. табл. 7.1). Вказані зміни призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зростання ШКФ у щурів на тлі введення КС-МСК на 155,3% відносно показників щурів контрольної групи, що на 51,2% статистично вірогідно ($p = 0,002$) перевищувало аналогічні ефекти референс-препарату канефрону.

Аналіз екскреції креатиніну нирками показав, що на тлі розвитку АІН у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання концентрації креатиніну в крові на 111,3% (див. табл. 7.1) та непропорційне зростання вмісту креатиніну в сечі лише на 54,4% ($p < 0,001$) відносно показників інтактних щурів, що становило відповідно 9043 ± 319 мкмоль/л сечі (табл. 7.2). Вказані зміни концентрації креатиніну зумовили статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження кліренсу креатиніну на 61,4%, що становило відповідно $0,16 \pm 0,01$ мл/хв (див. табл. 7.2).

На тлі застосування референс-препарату канефрону кліренс креатиніну статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 105,8% відносно показників нелікованих щурів з АІН. Серед досліджуваних БКБЗ КС-МСК за здатністю знижувати кліренс креатиніну у щурів з АІН перевищував показники канефрону – кліренс креатиніну статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 123,4% на тлі введення КС-МСК, в той час як на тлі застосування референс препарату аналогічний показник зріс на 105,8% ($p < 0,001$) відносно показників щурів групи контролю (див. табл. 7.2).

Введення КЕП та КЕС супроводжувались співставною з канефроном здатністю знижувати кліренс креатиніну у щурів з АІН – вказаний показник становив $0,31 \pm 0,03$ мл/хв та $0,32 \pm 0,01$ мл/хв відповідно (див. табл. 7.2).

Таблиця 7.2

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст креатиніну в крові і сечі та його кліренс у щурів з АІН на 70 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІН без лікув.)	АІН + канефрон	АІН + КЕП	АІН + КЕС	АІН + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	5857±115 (95 % ДІ: 5631–6083)	9043±319 (95 % ДІ: 8417–9668) $p_1 < 0,001$ [54,4%]	6971±416 (95 % ДІ: 6157–7786) $p_2 = 0,002$ [22,9%]	6771±452 (95 % ДІ: 5885–7658) $p_2 < 0,001$ [25,1%] $p_3 = 0,8$ [2,9%]	7457±433 (95 % ДІ: 6609–8305) $p_2 = 0,01$ [17,5%] $p_3 = 0,4$ [7,0%]	6486±577 (95 % ДІ: 5355–7616) $p_2 = 0,002$ [28,3%] $p_3 = 0,5$ [7,0%]
Кліренс креатиніну, мл/хв	0,41±0,03 (95 % ДІ: 0,36–0,47)	0,16±0,01 (95 % ДІ: 0,14–0,18) $p_1 < 0,001$ [61,4%]	0,33±0,03 (95 % ДІ: 0,26–0,39) $p_2 < 0,001$ [105,8%]	0,31±0,03 (95 % ДІ: 0,25–0,36) $p_2 < 0,001$ [92,4%] $p_3 = 0,6$ [6,5%]	0,32±0,01 (95 % ДІ: 0,29–0,35) $p_2 < 0,001$ [99,3%] $p_3 = 0,8$ [10,7%]	0,36±0,01 (95 % ДІ: 0,33–0,38) $p_2 < 0,001$ [123,4%] $p_3 = 0,4$ [8,6%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Крім того, встановлено, що аутоімунне ураження подоцитів, зумовлене розвитком АІН у щурів, призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зростання екскреції білка нирками, на що вказувала значна протеїнурія на рівні $28,4 \pm 3,1$ мг/добу (табл. 7.3), що у 11 разів перевищувало показники інтактних тварин ($2,6 \pm 0,4$ мг/добу). Вказана протеїнурія є патогномонічною ознакою розвитку МН. Відомо, що конденсація актинового цитоскелету у відростках подоцитів є специфічною особливістю як людського, так і експериментального АІН [1].

Виявлена нами в експерименті масивна протеїнурія на тлі розвитку АІН призвела до виразного статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження концентрації загального білка у крові на 59,8% відносно показників інтактних щурів, що відбувалось переважно за рахунок альбумінової фракції – рівень альбумінів у крові статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 60,0% та становив $12 [11; 15]$ г/л (див. табл. 7.3).

Застосування референс-препарату канефрону призвело до зниження екскреції білка нирками, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження протеїнурії на 51,8% та зростання загального білка в крові на 108,5% ($p < 0,001$) відносно показників щурів з АІН без лікування (див. табл. 7.3).

На тлі застосування досліджуваних БКБЗ відмічалось зниження екскреції білка нирками. Так, дослідження показали, що найбільше зниження протеїнурії відмічено на тлі введення щурам з АІН КС-МСК – показник протеїнурії знизився на 65,8% ($p < 0,001$) та становив $9,7 \pm 0,9$ мг/добу, що на 29,9% перевищувало ефективність ($p = 0,04$) за аналогічним видом активності референс-препарат канефрон, на тлі застосування якого протеїнурія знизилась лише на 51,3% та становила $13,9 \pm 1,5$ мг/добу (див. табл. 7.3). Привертає увагу, що за здатністю підвищувати вміст загального білка в крові всі досліджувані БКБЗ перевищували активність канефрону. Так, на тлі введення КС-МСК рівень загального білка в крові зріс ($p < 0,001$) на 132,4%, на тлі застосування КЕС – зріс ($p < 0,001$) на 129,6%, а на тлі введення КЕП – зріс ($p < 0,001$) на 121,6% та становив $70,7 \pm 2,7$ г/л, $69,9 \pm 2,1$ г/л та $67,4 \pm 3,4$ г/л відповідно.

Таблиця 7.3

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст білка в крові та інтенсивність протеїнурії
у щурів з АІН на 70 день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІН без лікув.)	АІН + канефрон	АІН + КЕП	АІН + КЕС	АІН + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Концентрація загального білка в крові, г/л	75,7±2,8 (95 % ДІ: 70,3–81,1)	30,4±2,0 (95 % ДІ: 26,4–34,4) $p_1 < 0,001$ [59,8%]	63,4±3,4 (95 % ДІ: 26,7–70,1) $p_2 < 0,001$ [108,5%]	67,4±3,4 (95 % ДІ: 60,8–74,1) $p_2 < 0,001$ [121,6%] $p_3 = 0,4$ [6,3%]	69,9±2,1 (95 % ДІ: 65,7–74,0) $p_2 < 0,001$ [129,6%] $p_3 = 0,13$ [10,1%]	70,7±2,7 (95 % ДІ: 65,3–76,1) $p_2 < 0,001$ [132,4%] $p_3 = 0,12$ [11,5%]
Вміст альбумінів в крові, г/л	30 [27; 31]	12 [11; 15] $p_1 < 0,001$ [60,0%]	26 [24; 29] $p_2 < 0,001$ [116,7%]	24 [22; 27] $p_2 < 0,001$ [100,0%] $p_3 = 0,3$ [8,7%]	20 [19; 24] $p_2 < 0,001$ [70,1%] $p_3 < 0,05$ [20,9%]	32 [31; 35] $p_2 < 0,001$ [149,4%] $p_3 = 0,1$ [18,6%]
Протеїнурія, мг/добу	2,6±0,4 (95 % ДІ: 1,7–3,4)	28,4±3,1 (95 % ДІ: 22,4–34,5) $p_1 < 0,001$ [1005,6%]	13,9±1,5 (95 % ДІ: 10,9–16,9) $p_2 < 0,01$ [51,3%]	11,9±0,9 (95 % ДІ: 10,2–13,5) $p_2 < 0,001$ [58,3%] $p_3 = 0,3$ [14,4%]	14,3±1,1 (95 % ДІ: 12,2–16,4) $p_2 < 0,001$ [49,7%] $p_3 = 0,9$ [3,1%]	9,7±0,9 (95 % ДІ: 7,9–11,6) $p_2 < 0,001$ [65,8%] $p_3 = 0,04$ [29,9%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

7.2 Оцінка рівнів простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом БКБЗ

Експериментальні дослідження показали, що у щурів на тлі розвитку АІН відбувається кратне зростання вмісту ейкозаноїдів у тканині нирок. Встановлено, що рівень ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс у 2,9 рази відносно показників інтактних щурів та становив $268,6 \pm 8,1$ (95 % ДІ: 286,6–314,5) пг/мг білка (табл. 7.4).

Віст ТxB2 у тканинах нирок щурів з АІН зріс у 5,5 рази ($p < 0,001$), а найбільше зростання серед досліджуваних ейкозаноїдів відмічено з боку ЛТВ4 – вказаний показник зріс у 10,5 разів ($p < 0,001$) та становив 21 [17; 24] пг/мг білка (див. табл. 7.4).

Встановлені зростання вмісту ПГЕ2, ТxB2 та ЛТВ4 за даними літератури можуть бути зумовлені активацією фосфоліпази та протеїнкінази в епітеліальних клітинах клубочків під впливом комплексу [656, 657].

Застосування референс-препарату канефрону викликало зниження вмісту досліджуваних ейкозаноїдів у тканинах нирок щурів з АІН на 19,0–23,6 % в середньому. Статистично вірогідне ($p = 0,002$) зниження відмічено лише з боку ПГЕ2 – вказаний показник знизився на 23,6% відносно показників нелікованих щурів (див. табл. 7.4).

На тлі введення досліджуваних БКБЗ найвиразніші зміни відмічено з боку вмісту ЛТВ4. Так, на тлі введення КЕП вміст ЛТВ4 у щурів з АІН знизився ($p = 0,005$) на 42,9%, на тлі введення КЕС – знизився ($p = 0,01$) на 33,3%, а на тлі введення КС-МСК – знизився ($p < 0,01$) на 61,9% (див. табл. 7.4).

Оцінка рівня ТxB2 у нирках щурів з АІН на тлі введення БКБЗ показала, що зазначений ейкозаноїд найвиразніше знизився ($p < 0,001$) на тлі застосування КС-МСК (44,4%).

На тлі введення досліджуваних кріоекстрактів рівень ТxB2 знизився на 26,4% ($p < 0,008$) та на 22,2% ($p < 0,04$) відповідно при введенні КЕП та при введенні КЕС (див. табл. 7.4).

Таблиця 7.4

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у тканинах нирок щурів з АІН на 70 день експерименту, пг/мг білка ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІН без лікув.)	АІН + канефрон	АІН + КЕП	АІН + КЕС	АІН + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Простагландин E2, пг/мг білка	92,7±3,6 (95 % ДІ: 85,7–99,7)	268,6±8,1 (95 % ДІ: 286,6–314,5) $p_1 < 0,001$ [222,0%]	228,0±15,9 (95 % ДІ: 196,8–259,2) $p_2 = 0,002$ [23,6%]	219,7±13,2 (95 % ДІ: 193,9–245),5 $p_2 < 0,001$ [26,4%] $p_3 = 0,7$ [3,6%]	218,9±11,4 (95 % ДІ: 196,6–241,1) $p_2 < 0,001$ [26,7%] $p_3 = 0,7$ [0,1%]	168,6±10,6 (95 % ДІ: 147,9–189,3) $p_2 < 0,001$ [43,5%] $p_3 < 0,01$ [23,3%]
Тромбоксан B2, пг/мг білка	13 [8,5; 13,0]	72 [58; 75] $p_1 < 0,001$ [453,8%]	61 [57; 63] $p_2 < 0,1$ [15,3%]	53 [49; 57] $p_2 < 0,008$ [26,4%] $p_3 < 0,03$ [13,1%]	56 [51; 65] $p_2 < 0,04$ [22,2%] $p_3 = 0,17$ [8,2%]	40 [30; 45] $p_2 < 0,001$ [44,4%] $p_3 < 0,001$ [34,4%]
Лейкотрієн B4, пг/мг білка	2 [2; 3]	21 [17; 24] $p_1 < 0,001$ [950,0%]	17 [14; 20] $p_2 = 0,1$ [19,0%]	12 [10; 14] $p_2 = 0,005$ [42,9%] $p_3 = 0,02$ [29,4%]	14 [13; 14] $p_2 = 0,01$ [33,3%] $p_3 = 0,08$ [17,6%]	8 [6; 9] $p_2 < 0,01$ [61,9%] $p_3 < 0,01$ [33,3%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Оцінка вмісту ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН показала, що найвиразніше вказаний показник знизився ($p < 0,001$) на тлі введення КС-МСК (43,5%). Введення КЕС та КЕП призвело до співставного зниження рівня ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН відповідно на 26,4% ($p < 0,001$) та на 26,7% ($p < 0,001$).

Встановлене зменшення рівня досліджуваних ейкозаноїдів у тканинах нирок щурів з АІН може бути пов'язано з наявністю протизапальної активності у досліджуваних БКБЗ, опосередкованої інгібуванням C5b-9-опосередкованого метаболізму арахідонової кислоти в клубочкових епітеліальних клітинах при МН [658].

Встановлена найвиразніша нефропротекторна дія КС-МСК при АІН у щурів узгоджується з даними літератури щодо здатності МСК полегшувати гломерулонефрит, індукований антитілами до базальної мембрани клубочків, шляхом пригнічення окислення та запалення [659].

7.3 Стан NO-ергічного гомеостазу при змодельованому нефриті Хеймана на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Встановлено, що розвиток АІН у щурів супроводжувався розбалансуванням активності NOS у тканинах нирок. Рівень сумарної активності NOS (табл. 7.5) незначно знизився порівняно з показниками інтактних тварин (15,3%; $p = 0,1$), проте співвідношення ізоформ вказаного ферменту зазнало значних порушень. Активність iNOS статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла на 83,3% та становила 2,2 [2,1; 2,9] нмоль НАДФН2 / хв $\times$ г білка, в той час як активність sNOS статистично вірогідно ($p = 0,002$) знизилась на 45,9% відносно показників інтактних щурів (див. табл. 7.5).

Зростання активності iNOS на тлі розвитку АІН відбувається як частина швидкої початкової відповіді на імунне пошкодження при гломерулонефриті. iNOS діє в складному середовищі серед багатьох інших медіаторів запалення, змінюючи експресію sNOS і саморегулюючи його власну експресію.

Таблиця 7.5

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на активність NO-синтаз у тканинах нирок щурів з АІН на 70 день експерименту, пг/мг білка ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІН без лікув.)	АІН + канефрон	АІН + КЕП	АІН + КЕС	АІН + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Сумарна активність NOS, нмоль НАДФН ₂ / хв × г білка	7,2 [5,9; 9,3]	6,1 [5,3; 6,8] p ₁ =0,1 [15,3%]	6,0 [5,3; 7,4] p ₂ =0,4 [1,6%]	6,5 [5,8; 7,2] p ₂ =0,2 [6,6%] p ₃ =0,4 [8,3%]	5,6 [5,5; 5,9] p ₂ =0,4 [8,2%] p ₃ =0,4 [6,7%]	6,2 [4,3; 7,6] p ₂ =0,4 [1,6%] p ₃ =0,4 [3,3%]
Активність iNOS, нмоль НАДФН ₂ / хв × г білка	1,2 [0,8; 1,5]	2,2 [2,1; 2,9] p ₁ <0,001 [83,3%]	1,8 [1,3; 2,1] p ₂ =0,03 [18,2%]	1,5 [1,0; 2,3] p ₂ =0,04 [31,8%] p ₃ =0,3 [16,7%]	1,4 [0,8; 1,7] p ₂ =0,008 [36,4%] p ₃ =0,1 [22,2%]	1,0 [0,8; 1,2] p ₂ <0,001 [54,5%] p ₃ =0,015 [44,4%]
Активність cNOS, нмоль НАДФН ₂ / хв × г білка	6,1 [5,0; 7,7]	3,3 [2,9; 3,7] p ₁ =0,002 [45,9%]	4,3 [3,7; 5,7] p ₂ =0,02 [30,3%]	4,7 [4,2; 5,2] p ₂ =0,015 [42,4%] p ₃ =0,4 [9,3%]	4,0 [4,0; 4,5] p ₂ =0,02 [21,2%] p ₃ =0,4 [7,0%]	5,2 [3,4; 6,8] p ₂ =0,05 [57,9%] p ₃ =0,4 [10,6%]

Примітки.

1. p₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Оцінка концентрації метаболітів NO у крові щурів з АІН продемонструвала значно більше статистично вірогідне ($p=0,008$) підвищення вмісту NO на 68,2% (рис. 7.2), що у 4,5 рази перевищувало зростання активності сумарної NOS, очевидно це вказує на надходження NO з відмінних, ніж власне NOS-синтазної системи клітин нирок, джерел.

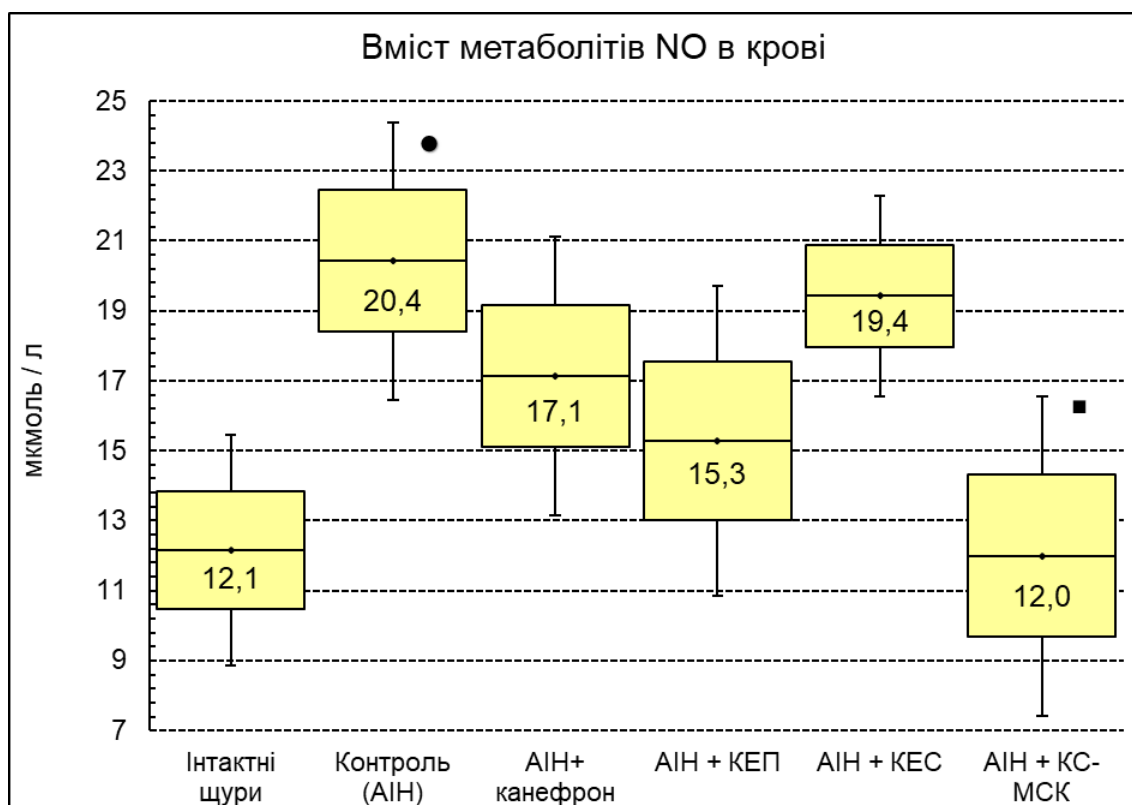


Рис. 7.2 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст метаболітів NO в крові щурів з АІН

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІН без лікування.

Зміни функції нирок, які відображаються змінами концентрації креатиніну, супроводжуватимуться змінами NO в сироватці крові [660]. Відомо, що сам сироватковий NO виводиться у людей нирками, в основному за рахунок процесу клубочкової фільтрації зі швидкістю 20 мл/хв, тому підвищений сироватковий NO можна сприймати як показник зниження функції нирок [660]. Великі кількості NO, отриманого з iNOS, також можуть інгібувати конститутивно виражену активність NOS (eNOS та nNOS), що призводить до змін ниркової мікроциркуляції з порушенням мікросудинного гомеостазу та функції нирок [661, 662].

Поки що немає консенсусу щодо ролі високого рівня вироблення NO, створеного iNOS у клубочку, хоча, багато досліджень показали, що інгібування NO може змінити рівень протеїнурії та лейкоцитарної інфільтрації, а також інші прояви пошкодження, такі як тромбоз та проліферація [663]. За даними імуногістохімічних досліджень *Furusu A. та співавт.* [664] iNOS локалізується в мезангіальних клітинах, клубочкових епітеліальних клітинах та інфільтруючих клітинах у клубочках нирок хворих на гломерулонефрит, тоді як імунне забарвлення iNOS майже не проявлялось у нирках здорових добровольців.

Дослідження показало, що застосування референс-препарату канефрону, як і досліджуваних БКБЗ, не призвело до статистично вірогідних змін з боку активності сумарної NOS у тканинах нирок щурів з АІН (див. табл. 7.5), яка залишалась нижчою за показники інтактних тварин. Однак оцінка співвідношення ізоформ NOS на тлі введення терапевтичних агентів показала статистично вірогідні зміни. Так, на тлі введення канефрону рівень iNOS у тканинах нирок щурів з АІН знизився на 18,2% ($p=0,03$) відносно показників інтактних тварин (див. табл. 1). На тлі застосування досліджуваних БКБЗ відмічено ще більше зниження активності iNOS. За виразністю пригнічення активності iNOS (% відносно показників нелікованих тварин) досліджувані БКБЗ доцільно розташувати у такій послідовності: КС-МСК (54,5%; $p<0,001$) > КЕС (36,4%; $p=0,008$) > КЕП (31,8%; $p=0,04$). Таким чином показано, що введення КС-МСК супроводжувалось найвиразнішим пригніченням

гіперекспресії iNOS у щурів з АІН. Це узгоджується з встановленими нами раніше нефропротекторними властивостями КС-МСК. Механізм імуномодуляції на основі похідних МСК може базуватись на їх здатності зменшувати кількість дендритних клітин, що продукують прозапальний ФНП- α , інтерферон- γ та ІЛ-17-продукуючі Т-клітини, а також шляхом збільшення кількості імуносупресивних ІЛ-10-продукуючих та регуляторних Т-клітин у пошкоджених нирках [665].

Крім встановленого зниження активності iNOS у тканинах нирок щурів з АІН, наше дослідження показало здатність застосованих БКБЗ призводити до відновлення активності cNOS. Встановлено, що досліджувані безклітинні засоби за здатністю підвищувати активність cNOS у тканинах нирок (% відносно показників нелікованих щурів з АІН) доцільно розташувати у такій послідовності: КС-МСК (57,9%; $p=0,05$) > КЕП (42,4%; $p=0,015$) > КЕС (21,2%; $p=0,02$).

Таким чином, проведене нами дослідження продемонструвало найвиразніше зростання активності Ca^{2+} -залежних ізоформ NOS (nNOS та eNOS) на тлі введення КС-МСК (див. табл. 7.5)

Варто зазначити, що оцінка вмісту стабільних метаболітів NO у крові показала, що статистично вірогідно ($p=0,018$) найбільше зниження вмісту досліджуваних похідних вказаного газотрнасмітера у щурів з АІН відмічалось на тлі введення КС-МСК – у тварин цієї групи рівень метаболітів NO становив $12,0 \pm 2,3$ (95% ДІ: 7,4–16,6) мкмоль/л (див. рис. 7.2).

Висновки до розділу 7

1. БКБЗ володіють нефропротекторною активністю на тлі нефриту Хеймана у щурів, на це вказувало відновлення функціональної активності нирок, що підтверджувалось зростанням ШКФ та зниженням концентрації креатиніну та сечовини у крові щурів з АІН. За виразністю нефропротекторного ефекту (за показниками ШКФ) досліджувані БКБЗ можна розташувати у наступній послідовності: КС-МСК (ШКФ: 856 ± 59 мкл/хв) > КЕС (ШКФ: 551 ± 43 мкл/хв) > КЕП (ШКФ: 504 ± 19 мкл/хв).

2. За здатністю нівелювати протеїнурію у щурів з АІН (% відносно нелікованих щурів з АІН) досліджувані засоби можна розташувати у послідовності: КС-МСК (65,8%; $p < 0,001$) > КЕП (58,3%; $p < 0,001$) > КЕС (49,7%; $p < 0,001$). За здатністю відновлювати кліренс креатиніну у щурів з АІН (% відносно нелікованих щурів з АІН) досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (123,4%; $p < 0,001$) > КЕС (99,3%; $p < 0,001$) > КЕП (92,4%; $p < 0,001$).
3. На тлі розвитку АІН відбувається зростання вмісту ейкозаноїдів у тканині нирок: рівень ПГЕ2 статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс у 2,9 рази, вміст ТxB2 зріс у 5,5 рази ($p < 0,001$), а ЛТВ4 зріс у 10,5 разів ($p < 0,001$) відносно показників інтактних тварин. При введенні досліджуваних БКБЗ найвиразніші зміни відмічено з боку вмісту ЛТВ4. На тлі введення КЕП вміст ЛТВ4 у щурів з АІН знизився ($p = 0,005$) на 42,9%. Оцінка вмісту ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН показала, що найвиразніше вказаний показник знизився ($p < 0,001$) на тлі введення КС-МСК (43,5%). Вміст ТxB2 аналогічно найвиразніше знизився ($p < 0,001$) на тлі застосування КС-МСК (44,4%).
4. За здатністю нормалізувати гіперактивність iNOS (% відносно показників нелікованих щурів з АІН) досліджувані БКБЗ доцільно розташувати у наступній послідовності: КС-МСК (54,5%; $p < 0,001$) > КЕС (36,4%; $p = 0,008$) > КЕП (31,8%; $p = 0,04$). За здатністю нівелювати пригнічення активності cNOS у тканинах нирок (% відносно показників нелікованих щурів з АІН) доцільно розташувати у послідовності: КС-МСК (57,9%; $p = 0,05$) > КЕП (42,4%; $p = 0,015$) > КЕС (21,2%; $p = 0,02$). За здатністю нормалізувати вміст стабільних метаболітів NO у крові (% відносно показників нелікованих щурів з АІН) досліджувані БКБЗ доцільно розташувати у такій послідовності: КС-МСК (41,3%; $p = 0,018$) > КЕП (25,2%; $p = 0,1$) > КЕС (4,9%; $p = 0,7$).

Основні положення цього розділу викладено у 7 публікаціях автора [43, 45, 58, 61, 76, 77, 83].

РОЗДІЛ 8

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МСК НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ГЕПАТИТУ

У розділі представлені результати дослідження ефективності КЕП, КЕС та КС-МСК у порівнянні з референс-препаратом силібором на моделі АІГ у щурів. Вивчені зміни в біохімічних показниках, що характеризують стан печінки, зокрема, рівень білірубіну, функції антиоксидантної системи, білковосинтетичної активності та енергетичний обмін. Застосування БКБЗ призвело до нормалізації цих показників, зокрема, зменшення цитолітичних проявів та відновлення енергетичного балансу. Результати ДНК-цитометрії вказують на відновлення проліферації гепатоцитів, зменшення частки клітин з фрагментованою ДНК та покращення клітинного циклу, що свідчить про позитивний вплив БКБЗ на регенерацію печінки.

8.1 Вплив БКБЗ на порушення пігментного обміну при АІГ

Оцінка стану пігментного обміну показала, що на тлі розвитку АІГ у щурів відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня загального білірубіну у крові на 148,9% відносно показників інтактних щурів, що становило 33,4 ммоль/л (табл. 8.1). Зростання загального білірубіну у тварин групи контролю відбувалось переважно за рахунок пулу прямого білірубіну – його концентрація статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла на 240,0% та становила 17,0 ммоль/л, в той час як вміст непрямого білірубіну зріс ($p < 0,001$) лише на 98,3% відносно показників інтактних щурів (див. табл. 8.1).

Таблиця 8.1

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на концентрацію білірубіну в сироватці крові щурів з АІГ
на 52 день експерименту, ммоль/л ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальний білірубін, ммоль/л	13,4±0,69 (95 % ДІ: 12,1–14,8)	33,4±1,67 (95 % ДІ: 30,1–36,7) $p_1 < 0,001$ [148,9%]	19,7±0,84 (95 % ДІ: 18,1–21,4) $p_2 < 0,001$ [41,0%]	16,9±0,86 (95 % ДІ: 15,2–18,5) $p_2 < 0,001$ [49,6%] $p_3 < 0,05$ [14,5%]	20,0±1,23 (95 % ДІ: 17,6–22,4) $p_2 < 0,001$ [40,2%] $p_3 = 0,9$ [2,7%]	15,9±0,96 (95 % ДІ: 14,0–17,7) $p_2 < 0,001$ [52,6%] $p_3 < 0,05$ [19,6%]
Прямий білірубін, ммоль/л	5,0 [4,0; 6,0]	17,0 [14,5; 19,5] $p_1 < 0,001$ [240,0%]	9,0 [8,0; 9,0] $p_2 < 0,001$ [47,1%]	8,0 [7,5; 9,5] $p_2 < 0,01$ [52,9%] $p_3 = 0,37$ [11,1%]	10,0 [9,0; 11,5] $p_2 < 0,01$ [41,2%] $p_3 = 0,03$ [11,1%]	7,0 [5,5; 8,5] $p_2 < 0,001$ [58,8%] $p_3 < 0,05$ [22,2%]
Непрямий білірубін, ммоль/л	8,3±0,57 (95 % ДІ: 7,2–9,4)	16,4±1,13 (95 % ДІ: 14,2–18,6) $p_1 < 0,001$ [98,3%]	11,1±0,88 (95 % ДІ: 9,4–12,9) $p_2 < 0,01$ [32,2%]	8,3±0,97 (95 % ДІ: 6,4–10,2) $p_2 < 0,001$ [49,6%] $p_3 = 0,1$ [25,6%]	9,9±1,28 (95 % ДІ: 7,3–12,4) $p_2 < 0,01$ [40,0%] $p_3 = 0,4$ [21,9%]	8,9±1,06 (95 % ДІ: 6,8–10,9) $p_2 < 0,001$ [46,1%] $p_3 = 0,1$ [20,5%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Підвищення рівня білірубіну класифікують як пряму (кон'юговану) гіпербілірубінемію та непряму (некон'юговану) гіпербілірубінемію [666, 667]. Виявлене нами підвищення рівня білірубіну та його фракцій на тлі АІГ у щурів належить до прямої гіпербілірубінемії, оскільки відбулось переважно за рахунок прямого білірубіну. Як відомо, гемоліз є найчастішою причиною непрямой гіпербілірубінемії, за якою слідує синдром Жильбера. З іншого боку, пряма гіпербілірубінемія вказує на патологію печінки, включаючи холестатичну реакцію на ліки, аутоімунне холестатичне захворювання та обструкцію жовчних шляхів [666, 667].

Застосування референс-препарату силібору нівелювало порушення пігментного обміну, індуковані розвитком АІГ у щурів. Встановлено, що рівень загального білірубіну у щурів з АІГ, яким вводили силібор статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 41,0% був нижчим за показники тварин з АІГ без лікування (див. табл. 8.1).

Серед досліджуваних БКБЗ введення КЕС супроводжувалось співставною з силібором здатністю нормалізувати рівень загального білірубіну у щурів з АІГ. Рівень вказаного показника статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 40,2% та становив 20,0 ммоль/л. В той же час введення КЕС поступалось за здатністю нормалізувати пігментний обмін іншим БКБЗ (див. табл. 8.1).

Інші БКБЗ (КЕП та КС-МСК) перевищували за здатністю нормалізувати пігментний обмін у щурів з АІГ як КЕС, так і референс-препарат силібор. Так, на тлі введення КЕП рівень загального білірубіну у щурів з АІГ статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 49,6%, а на тлі введення КС-МСК – статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 52,6% відносно показників щурів контрольної групи та становив відповідно 16,9 ммоль/л та 15,9 ммоль/л (див. табл. 8.1).

Варто зазначити, що на тлі застосування КС-МСК відмічено тенденцію до відновлення пропорційного співвідношення прямого та непрямой білірубіну. Так, на тлі введення КС-МСК співвідношення прямий:непрямий

білірубін становило 1:1,3; на тлі введення силібору – 1:1,2; в той час як на тлі введення досліджуваних кріоекстрактів аналогічні співвідношення залишались незмінними та становили 1:1, як і у тварин контрольної групи (1:1), в той час як у інтактних тварин аналогічне співвідношення дорівнювалось 1:1,7.

Таким чином, за здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у послідовності (за % зниження загального білірубіну відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (52,6%; $p < 0,001$) > КЕП (49,6%; $p < 0,001$) > КЕС (40,2%; $p < 0,001$).

8.2 Цитолітичні процеси у печінці щурів з АІГ на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Дослідження показало, що розвиток АІГ у щурів супроводжувався формуванням цитолітичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне зростання рівня АлАт на 66,7% ($p = 0,015$) та зростання рівня АсАт на 85,0% ($p < 0,001$) у сироватці периферичної крові відносно аналогічних показників інтактних тварин (табл. 8.2). Вказане диспропорційне зростання рівня амінотрансфераз у щурів з АІГ призвело до зниження значення коефіцієнта де Рітиса на 20,0% відносно значень у здорових щурів (рис. 8.1).

Також встановлено, що розвиток АІГ у щурів супроводжувався статистично вірогідним ($p = 0,002$) зростанням на 52,3% активності γ -ГТП (рис. 8.2) та зростанням ($p = 0,01$) на 36,5% активності ЛФ (рис. 8.3). Як відомо, γ -ГТП є ферментом, зв'язаним із плазматичною мембраною, який бере участь у γ -глутаміловому циклі, подібно до метаболізму глутатіону. Цей фермент відіграє важливу роль у захисті клітин від окислювального стресу, тому його перевіряють як ключовий біомаркер для кількох захворювань, зокрема при пошкодженнях печінки [668]. Зміни з боку амінотрансфераз, γ -ГТП та ЛФ вірогідно вказують на формування цитолітичного синдрому на тлі АІГ.

Таблиця 8.2

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів з АІГ

на 52 день експерименту, мкмоль / (мл × год), ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
АлАт, мкмоль / (мл × год)	1,2 [0,8; 1,8]	2,0 [1,7; 2,2] $p_1=0,015$ [66,7%]	1,4 [1,2; 1,5] $p_2=0,002$ [30,0%]	1,3 [0,8; 1,8] $p_2=0,015$ [35,0%] $p_3=0,5$ [7,1%]	1,5 [1,3; 1,7] $p_2=0,015$ [25,0%] $p_3=0,3$ [7,1%]	1,3 [1,2; 1,5] $p_2=0,003$ [35,0%] $p_3=0,4$ [7,1%]
АсАт, мкмоль / (мл × год)	1,6±0,13 (95 % ДІ: 1,4–1,9)	3,0±0,21 (95 % ДІ: 2,6–3,4) $p_1<0,001$ [85,0%]	2,0±0,18 (95 % ДІ: 1,6–2,3) $p_2=0,003$ [34,0%]	2,1±0,09 (95 % ДІ: 1,9–2,2) $p_2=0,002$ [31,3%] $p_3=0,7$ [4,3%]	2,0±0,23 (95 % ДІ: 1,6–2,5) $p_2=0,01$ [31,6%] $p_3=0,8$ [3,6%]	1,5±0,13 (95 % ДІ: 1,3–1,8) $p_2<0,001$ [49,3%] $p_3=0,6$ [23,2%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Застосування референс-препарату силібору призвело до нівелювання ознак цитолітичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне зниження рівня амінотрансфераз (див. табл. 8.2) – рівень АлАт статистично вірогідно ($p=0,002$) знизився на 30,0% відносно показників щурів контрольної групи та становив 1,4 [1,2; 1,5] мкмоль / (мл × год), а рівень АсАт – статистично вірогідно ($p=0,003$) знизився на 34,0% відносно показників нелікованих щурів з АІГ та становив відповідно $2,0 \pm 0,18$ (92% ДІ: 1,6–2,3) мкмоль / (мл × год).

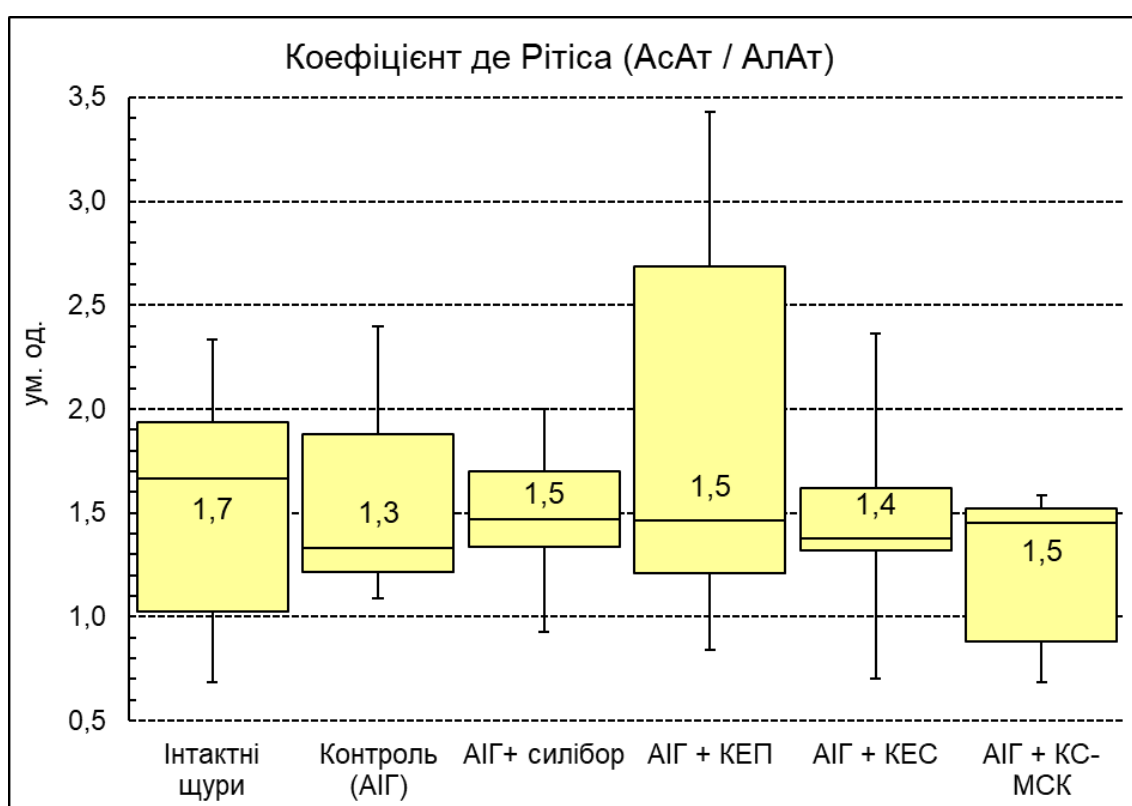


Рис. 8.1 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення коефіцієнта де Рітиса (АсАт / АлАт) у сироватці крові щурів з АІГ
Примітки.

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.

Встановлене зниження активності амінотрансфераз на тлі застосування силібору у щурів з АІГ призвело до зростання значення коефіцієнта де Рітиса на 10,0% (див. рис. 8.1). Також встановлене статистично вірогідне ($p=0,02$) зниження активності ЛФ на 22,1% відносно показників щурів контрольної групи на тлі застосування силібору у щурів з АІГ (див. рис. 8.3).

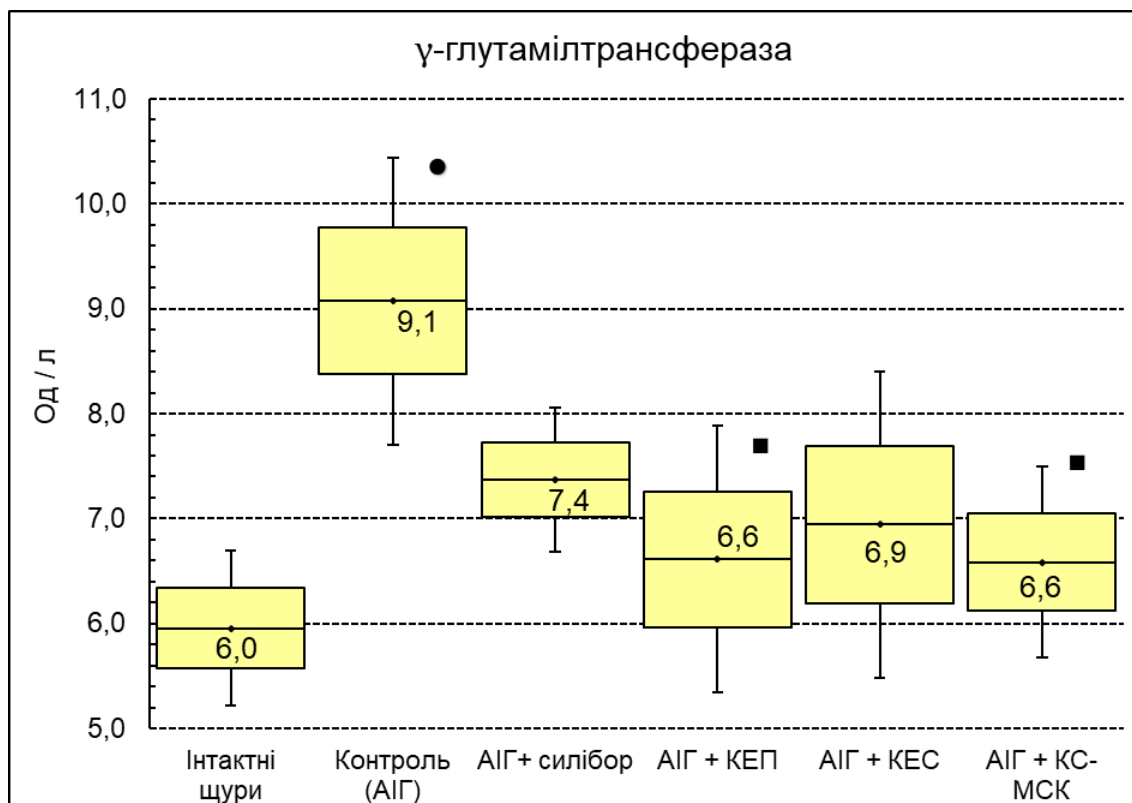


Рис. 8.2 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність γ -ГТП у сироватці крові щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ.

Як відомо, тканинно-неспецифічна ЛФ є ключовим ферментом, що бере участь у дефосфорилуванні різних фізіологічних субстратів і виконує життєво важливі фізіологічні функції, включаючи позаскелетні функції, такі як розвиток нейронів, детоксикація ліпополісахариду, протизапальна роль, регуляція рН жовчі та підтримка гематоенцефалічного бар'єру [669].

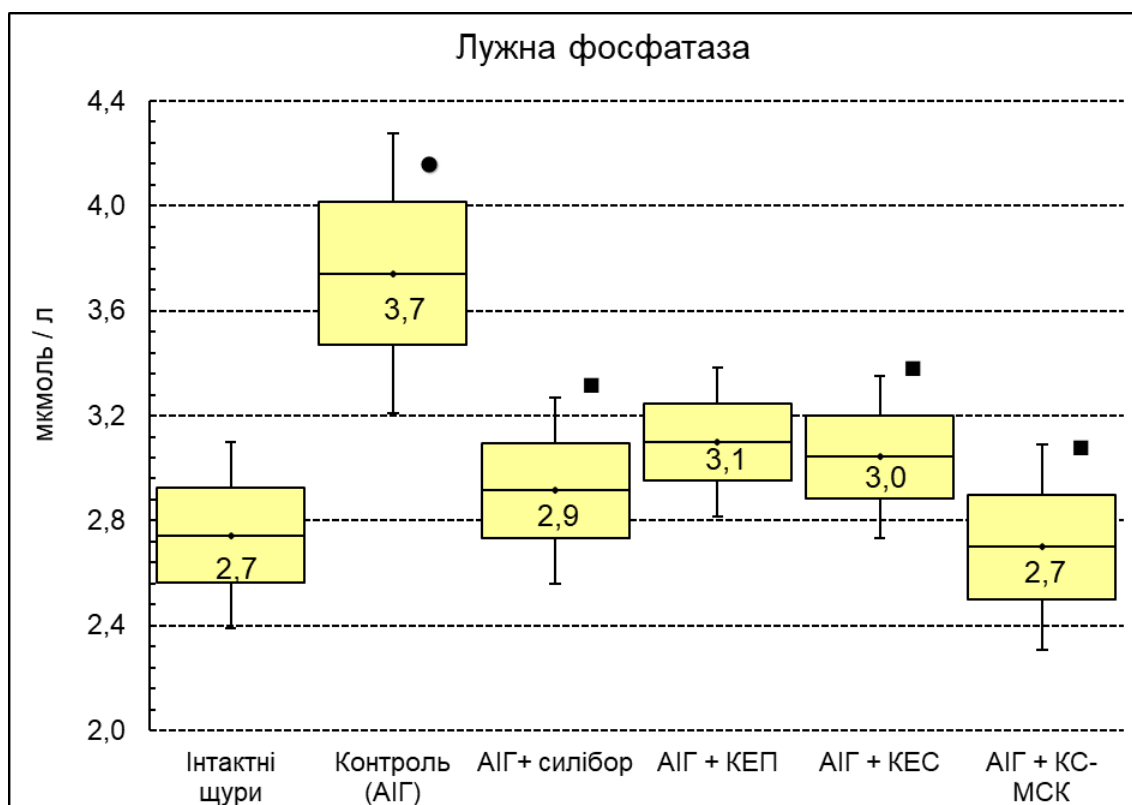


Рис. 8.3 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність ЛФ у сироватці крові щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ (контрольна група).

Застосування досліджуваних БКБЗ призвело до виразного ослаблення ознак цитолітичного синдрому у щурів з АІГ. Встановлено, що найвиразніше рівень АлАт знизився на тлі застосування КЕП та КС-МСК – активність вказаного ензиму знизилась відповідно на 35,0% ($p < 0,05$) в обох випадках (див. табл. 8.2) відносно показників щурів з АІГ без лікування. В той час як активність АсАт найвиразніше статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на тлі застосування КС-МСК та становила відповідно $1,5 \pm 0,13$ (95% ДІ: 1,3–1,8) мкмоль / (мл $\times$ год), що на 23,2% ($p = 0,6$) перевищувало здатність референс-препарату силібору знижувати аналогічний показник у щурів з АІГ.

Оцінка значення коефіцієнта де Рітіса показала, що найвиразнішу тенденцію до зростання цього показника відмічено на тлі застосування КЕП та КС-МСК (див. рис. 8.1).

Оцінка рівня γ -ГТП та ЛФ показала, що на тлі застосування БКБЗ у щурів з АІГ найвиразніше статистично вірогідне зниження активності γ -ГТП відзначено на тлі введення КЕП та КС-МСК – активність γ -ГТП знизилась відповідно на 27,1% ($p = 0,024$) та на 27,4% ($p = 0,012$) відносно показників щурів контрольної групи (див. рис. 8.2). Найвиразніше зниження активності ЛФ у щурів з АІГ відмічено на тлі введення КС-МСК – вказаний показник статистично вірогідно ($p = 0,009$) знизився на 27,9% відносно показників нелікованих щурів з АІГ та становив $2,7 \pm 0,20$ (95% ДІ: 2,3–3,1) мкмоль/л (див. рис. 8.3).

8.3 Оцінка білковосинтезуючої функції печінки при АІГ у щурів на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Проведене дослідження показало, що на 52 день експерименту у щурів з АІГ відмічено порушення синтезу білка печінкою, на це вказувало статистично вірогідне ($p = 0,03$) зниження рівня загального білка в сироватці периферичної крові на 10,4% відносно показників інтактних тварин, що становило відповідно $60,0 \pm 1,7$ г/л (табл. 8.3).

Таблиця 8.3

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на показники білкового гомеостазу в сироватці крові щурів з АІГ
на 52 день експерименту, г/л ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальний білок, г/л	67,0±2,2 (95 % ДІ: 62,7–71,3)	60,0±1,7 (95 % ДІ: 56,7–63,6) $p_1=0,03$ [10,4%]	63,1±2,7 (95 % ДІ: 56,7–68,4) $p_2=0,3$ [5,2%]	65,1±2,6 (95 % ДІ: 60,1–70,2) $p_2=0,1$ [8,6%] $p_3=0,6$ [3,2%]	61,0±5,5 (95 % ДІ: 50,1–71,9) $p_2=0,9$ [1,7%] $p_3=0,7$ [13,4%]	72,1±1,6 (95 % ДІ: 68,9–75,4) $p_2<0,001$ [20,2%] $p_3=0,01$ [14,3%]
Альбуміни, г/л	36,7±1,7 (95 % ДІ: 33,4–40,1)	25,7±1,6 (95 % ДІ: 22,6–28,8) $p_1<0,001$ [30,0%]	32,9±2,0 (95 % ДІ: 29,0–36,7) $p_2=0,015$ [27,8%]	33,1±1,8 (95 % ДІ: 29,7–36,6) $p_2=0,009$ [28,9%] $p_3=0,9$ [0,9%]	33,4±1,7 (95 % ДІ: 30,1–36,7) $p_2=0,006$ [30,0%] $p_3=0,8$ [1,7%]	38,3±1,2 (95 % ДІ: 35,7–40,7) $p_2<0,001$ [48,9%] $p_3=0,037$ [16,5%]
Глобуліни, г/л	30,3±1,8 (95 % ДІ: 26,8–33,8)	34,3±1,5 (95 % ДІ: 31,4–37,2) $p_1=0,1$ [13,2%]	30,3±1,0 (95 % ДІ: 28,3–32,2) $p_2=0,045$ [11,7%]	32,0±1,3 (95 % ДІ: 29,5–34,5) $p_2=0,1$ [6,7%] $p_3=0,3$ [5,7%]	27,6±4,4 (95 % ДІ: 19,0–36,1) $p_2=0,2$ [19,6%] $p_3=0,5$ [9,0%]	33,9±1,8 (95 % ДІ: 30,3–37,4) $p_2=0,9$ [1,3%] $p_3=0,1$ [11,8%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом $1, 2, 3$ вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Зниження рівня загального білка відбулось здебільшого за рахунок фракції альбуміну – його вміст статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 30,0% відносно показників інтактних щурів. Рівень альбуміну у щурів з АІГ відповідно становив $25,7 \pm 1,6$ г/л (див. табл. 8.3).

В той же час рівень глобулінів знизився ($p = 0,1$) лише на 13,2% відносно аналогічного показника в інтактних тварин та становив $34,3 \pm 1,5$ г/л. Встановлене непропорційне зниження за окремими фракціями ЗБ призвело до статистично вірогідного ($p = 0,003$) зниження альбумін-глобулінового (А/Г) співвідношення на 38,5% відносно показників інтактних щурів, що становило $0,8 \pm 0,07$ ум. од. (рис. 8.4).

Внутрішньошлункове введення щурам з АІГ на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту референс-препарату силібору в дозі 50 мг/кг призвело до відновлення рівня ЗБ у сироватці периферичної крові, що вказувало на нівелювання порушень білковосинтезуючої функції печінки при її експериментальному аутоімунному ураженні. Дослідження показало, що рівень ЗБ у щурів з АІГ, яким вводили силібор, зріс на 5,2% ($p = 0,3$) відносно показників нелікованих тварин, що відбулось переважно за рахунок альбумінової фракції. Рівень альбумінів у щурів вказаної групи статистично вірогідно ($p = 0,015$) зріс на 27,8% відносно рівня у щурів контрольної групи (див. табл. 8.3). Рівень глобулінів у щурів з АІГ на тлі введення силімарину, в свою чергу, статистично вірогідно ($p = 0,045$) зріс на 11,7% відносно показників щурів контрольної групи, що становило відповідно $30,3 \pm 1,5$ г/л.

Оцінка зміни А/Г-співвідношення показало, що введення референс-препарату силібору щурам з АІГ призвело до статистично вірогідного зростання ($p = 0,003$) зазначеного показника на 41,9% відносно значення аналогічного показника у щурів контрольної групи (див. рис. 8.4).

Здатність силібору відновлювати білковосинтезуючу функцію печінки на тлі АІГ у щурів узгоджується з літературними даними [670, 671] щодо гепатопротекторних властивостей вказаного препарату.

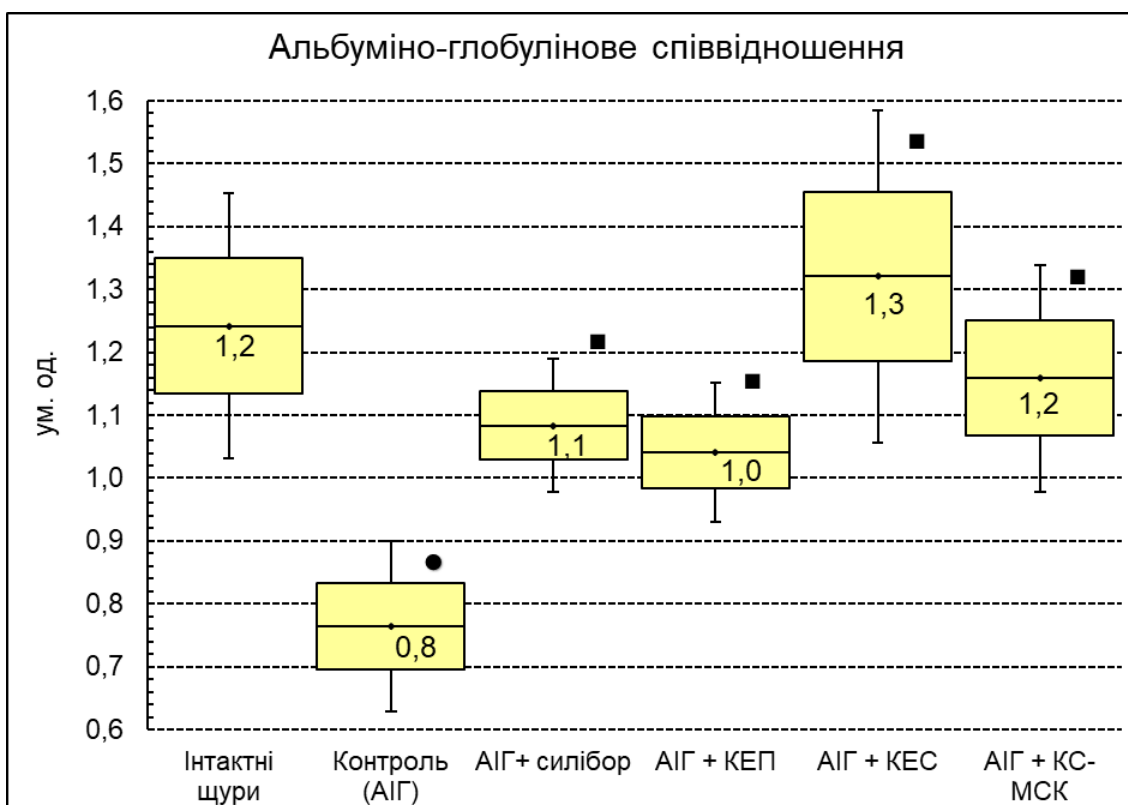


Рис. 8.4 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення альбумін-глобулінового співвідношення у крові щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ (контрольна група).

Дослідження впливу БКБЗ на стан білковосинтезуючої функції печінки тварин з експериментальним АІГ за їх введення на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту показало, що найвиразніше зростання рівня загального білка в сироватці крові відмічено на тлі застосування КС-МСК – рівень білка статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 20,2% відносно показників тварин групи контролю та становив $72,1 \pm 1,6$ г/л, що на 14,3% статистично вірогідно перевищувало ($p = 0,01$) аналогічний показник тварин, яким вводили референс-

препарат силібор (див. табл. 8.3). На тлі введення досліджуваних кріоекстрактів рівень ЗБ у щурів з АІГ показав менш виразне зростання. Так, на тлі введення КЕП рівень білка зріс ($p=0,1$) на 8,6%, а на тлі введення КЕС – зріс ($p=0,9$) на 1,7% відносно показників щурів групи контролю та становив відповідно $65,1 \pm 2,6$ г/л та $61,0 \pm 5,5$ г/л (див. табл. 8.3).

Оцінка зміни рівня білка за його фракціями показала, що на тлі введення КС-МСК рівень вказаного показника на 48,9% ($p<0,001$) зріс за рахунок альбумінової фракції, в той час як рівень глобулінів на тлі введення зазначеного БКБЗ мав найменшу тенденцію до зростання – рівень глобулінів на тлі введення КС-МСК зріс ($p=0,9$) лише на 1,3% (див. табл. 8.3).

Найвиразніше зростання фракції глобулінів у сумарному пулі загального білка на моделі АІГ у щурів відмічено на тлі застосування КЕС – рівень глобулінів зріс ($p=0,2$) на 19,6% відносно показників щурів контрольної групи та становив відповідно $27,6 \pm 4,4$ г/л.

Диспропорційне зростання рівня фракцій ЗБ на тлі введення досліджуваних БКБЗ у щурів з АІГ призвело до статистично вірогідного зростання значення А/Г-співвідношення. Найвиразніше А/Г-співвідношення зросло ($p=0,003$) на тлі введення КЕС та становило $1,3 \pm 0,13$ ум. од. (див. рис. 8.4). Отримані результати оцінки зміни А/Г-співвідношення на тлі застосування БКБЗ можна розцінювати як показник ефективності відновлення білковосинтезуючої функції печінки у щурів з АІГ, що узгоджується з даними літератури, що А/Г-співвідношення, яке враховує як альбумін, так і глобулін, є зручним серологічним індикатором для ідентифікації цілої низки аномалій сироваткового білка [672, 673].

8.4 Антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз при АІГ у щурів після введення БКБЗ

Дослідження стану антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах печінки на тлі розвитку АІГ показало зростання вмісту ТБК-РП ($p<0,001$) на 172,5%, що відбувалось на тлі зниження ($p=0,004$) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% ($p=0,4$) активності каталази (табл. 8.4).

Таблиця 8.4

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на біохімічні показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах печінки щурів з АІГ на 52 день експерименту, мкмоль/г ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	5,7±0,57 (95 % ДІ: 4,6–6,8)	15,6±1,09 (95 % ДІ: 13,4–17,7) $p_1 < 0,001$ [172,5%]	8,9±0,86 (95 % ДІ: 7,2–10,5) $p_2 < 0,001$ [43,1%]	11,1±0,63 (95 % ДІ: 9,9–12,4) $p_2 < 0,01$ [28,4%] $p_3 < 0,1$ [25,8%]	11,9±1,24 (95 % ДІ: 9,4–14,3) $p_2 < 0,05$ [23,9%] $p_3 < 0,1$ [31,3%]	6,4±0,53 (95 % ДІ: 5,4–7,5) $p_2 < 0,001$ [58,7%] $p_3 < 0,05$ [27,4%]
Каталаза, мкат/кг тканини	2,1±0,46 (95 % ДІ: 1,2–3,0)	1,7±0,29 (95 % ДІ: 1,2–2,3) $p_1 = 0,4$ [20,0%]	2,3±0,42 (95 % ДІ: 1,5–3,1) $p_2 = 0,3$ [33,3%]	2,1±0,34 (95 % ДІ: 1,5–2,8) $p_2 = 0,4$ [25,0%] $p_3 = 0,8$ [6,3%]	1,9±0,34 (95 % ДІ: 1,2–2,5) $p_2 = 0,8$ [8,3%] $p_3 = 0,4$ [18,8%]	2,0±0,31 (95 % ДІ: 1,4–2,6) $p_2 = 0,5$ [16,7%] $p_3 = 0,6$ [12,5%]
СОД, ум. од. / кг	5,0 [3,5; 7,5]	3,0 [2,0; 3,0] $p_1 = 0,004$ [40,0%]	5,0 [4,5; 7,5] $p_2 = 0,006$ [66,7%]	4,0 [2,5; 5,5] $p_2 = 0,08$ [33,3%] $p_3 = 0,1$ [20,0%]	4,0 [2,5; 6,0] $p_2 = 0,3$ [20,0%] $p_3 = 0,3$ [20,0%]	5,0 [4,5; 9,0] $p_2 = 0,006$ [66,7%] $p_3 = 0,3$ [0%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Вказані ознаки активації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та виснаження антиоксидантної системи (АОС) призвели до статистично вірогідного зниження ($p=0,002$) інтегрального показника ПОЛ-АОС – АПІ на 71,0% відносно показників інтактних щурів (рис. 8.5). Показана активація ПОЛ узгоджується з даними літератури про розвиток оксидантного стресу у хворих на АІГ [674].

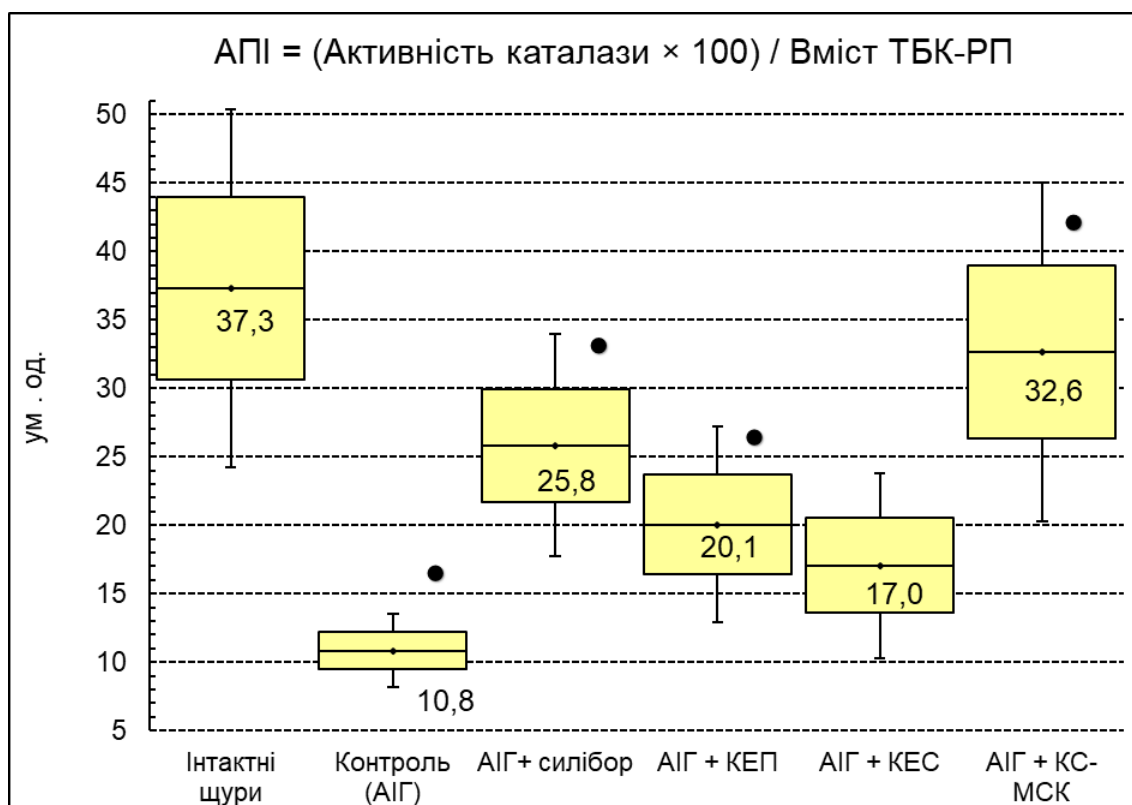


Рис. 8.5 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів.

Досліджувані кріоекстракти поступались за здатністю нівелювати ПОЛ референс-препарату силібору. Так, рівень ТБК-РП у щурів з АІГ на тлі введення силібору становив 8,9 мкмоль/кг тканини, в той час як на тлі введення КЕП цей показник становив 11,1 мкмоль/кг тканини, а на тлі введення КЕС – 11,9 мкмоль/кг тканини, що відповідно на 28,4% ($p < 0,01$) та на 23,9% ($p < 0,05$) нижче за показники щурів контрольної групи (див. табл. 8.4).

Найвиразніше пригнічення процесів ПОЛ відмічено на тлі застосування КС-МСК у щурів з АІГ – рівень ТБК-РП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 58,7% відносно тварин контрольної групи та становив 6,4 мкмоль/кг тканини (див. табл. 8.4).

За здатністю відновлювати активність каталази у тканинах печінки на тлі АІГ у щурів всі досліджувані БКБЗ поступались референс-препарату силібору. Так, за здатністю відновлювати активність каталази досліджувані засоби можна розташувати у такій послідовності (за % зростання щодо показників щурів контрольної групи): силібор (33,3%; $p = 0,3$) > КЕП (25,0%; $p = 0,4$) > КС-МСК (16,7%; $p = 0,5$) > КЕС (8,3%; $p = 0,8$).

За здатністю відновлювати активність СОД у щурів на тлі АІГ досліджувані кріоекстракти поступались за ефективністю референс-препарату силібору. В той же час, встановлено, що введення КС-МСК чинило співставний з силібором вплив на активність СОД – її активність статистично вірогідно ($p = 0,006$) зросла на 66,7% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 8.4).

За здатністю відновлювати баланс у системі ПОЛ-АОС досліджувані БКБЗ можна розташувати у послідовності (% зростанні АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p = 0,005$) > КЕП (85,3%; $p = 0,002$) > КЕС (57,5%; $p = 0,1$).

Встановлені антиоксидантні властивості у КС-МСК узгоджувались з даними літератури про наявність зазначеної активності у похідних МСК [675]. Встановлений нами модулюючий вплив КЕП на ПОЛ-АОС узгоджується з попередніми дослідженнями аналогічної активності БКБЗ, зокрема КЕП та КС-МСК [676].

8.5 Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному АІГ та введенні БКБЗ

Дослідження показало, що розвиток аутоімунного запального процесу у тканинах печінки супроводжувався статистично вірогідним зниженням рівня АТФ на 55,1% ($p < 0,001$) та зниженням рівня АДФ на 57,1% ($p = 0,1$). Рівень же АМФ у гепатоцитах щурів з АІГ навпаки зріс у 2,6 рази ($p < 0,01$) відносно показників інтактних щурів та становив $1,8 \pm 0,23$ мкмоль/г (табл. 8.5).

Як відомо, у живій клітині практично всі біоенергетичні процеси пов'язані один з одним за допомогою аденозинових нуклеотидів, які споживаються або регенеруються різними ферментативними реакціями. Насправді найважливішими регуляторними елементами, які беруть участь у поєднанні катаболічних і анаболічних реакцій, є АТФ, АДФ та АМФ [677].

Варто зазначити, що співвідношення АТФ, АДФ та АМФ функціонально важливіше, ніж абсолютна концентрація АТФ. Саме тому різні співвідношення часто використовувалися для перевірки метаболічних шляхів, які виробляють і споживають АТФ [677]. Аденілатний енергетичний заряд (АЕЗ) – це скалярний індекс, що варіюється від 0 до 1. Коли весь пул аденінових нуклеотидів знаходиться у формі АМФ, енергетичний заряд дорівнює нулю, і система повністю розряджена (нульові концентрації АТФ та АДФ). Тільки з АДФ енергетичний заряд становить 0,5. Якщо весь пул аденінових нуклеотидів знаходиться у формі АТФ, тоді АЕЗ дорівнює 1 [677].

Виявлені у дослідженні зміни вмісту аденілових нуклеотидів на тлі розвитку АІГ призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження АЕЗ на 42,5% відносно показників інтактних щурів, який становив $0,41 \pm 0,03$ ум. од. (рис. 8.6). Застосування референс-препарату силібору призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зростання рівня АТФ у гепатоцитах щурів з АІГ на 54,7% та зниження ($p < 0,05$) рівня АМФ на 34,1% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 8.5). Також відмічено зростання рівня АДФ ($p = 0,1$) на 33,1% щодо показників нелікованих щурів з АІГ.

Таблиця 8.5

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на вміст аденілових нуклеотидів у тканинах печінки щурів з АІГ на 52 день експерименту, мкмоль/г ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г тканини	2,4±0,11 (95 % ДІ: 2,2–2,6)	1,1±0,10 (95 % ДІ: 0,9–1,3) $p_1 < 0,001$ [55,1%]	1,7±0,16 (95 % ДІ: 1,4–2,0) $p_2 < 0,05$ [54,7%]	2,0±0,09 (95 % ДІ: 1,8–2,2) $p_2 < 0,001$ [89,3%] $p_3 = 0,1$ [22,4%]	1,8±0,11 (95 % ДІ: 1,6–2,1) $p_2 < 0,001$ [72,0%] $p_3 = 0,4$ [19,9%]	2,2±0,12 (95 % ДІ: 1,9–2,4) $p_2 < 0,001$ [102,7%] $p_3 < 0,05$ [31,0%]
АДФ, мкмоль/г тканини	1,4 [0,8; 1,6]	0,6 [0,5; 1,0] $p_1 = 0,1$ [57,1%]	0,8 [0,7; 0,9] $p_2 = 0,1$ [33,3%]	0,9 [0,9; 1,2] $p_2 = 0,08$ [50,0%] $p_3 = 0,03$ [12,5%]	0,7 [0,7; 1,0] $p_2 < 0,2$ [16,7%] $p_3 = 0,4$ [12,5%]	1,1 [1,1; 1,2] $p_2 = 0,09$ [83,3%] $p_3 = 0,04$ [37,5%]
АМФ, мкмоль/г тканини	0,7±0,14 (95 % ДІ: 0,4–1,0)	1,8±0,23 (95 % ДІ: 1,4–2,3) $p_1 < 0,01$ [163,3%]	1,2±0,17 (95 % ДІ: 0,9–1,6) $p_2 < 0,049$ [34,1%]	1,4±0,14 (95 % ДІ: 1,1–1,7) $p_2 < 0,01$ [24,8%] $p_3 = 0,5$ [14,1%]	1,4±0,16 (95 % ДІ: 1,1–1,7) $p_2 = 0,1$ [23,3%] $p_3 = 0,4$ [16,5%]	0,8±0,09 (95 % ДІ: 0,6–1,0) $p_2 < 0,01$ [58,1%] $p_3 = 0,04$ [36,5%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Вказані зміни співвідношення рівнів АТФ, АДФ та АМФ у гепатоцитах щурів з АІГ на тлі введення силібору зумовили статистично вірогідне ($p < 0,01$) зростання АЕЗ на 37,8% відносно аналогічного показника у щурів групи контролю (див. рис. 8.6). Встановлена здатність силібору відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах на тлі АІГ у щурів узгоджується з широким спектром його біологічної активності.

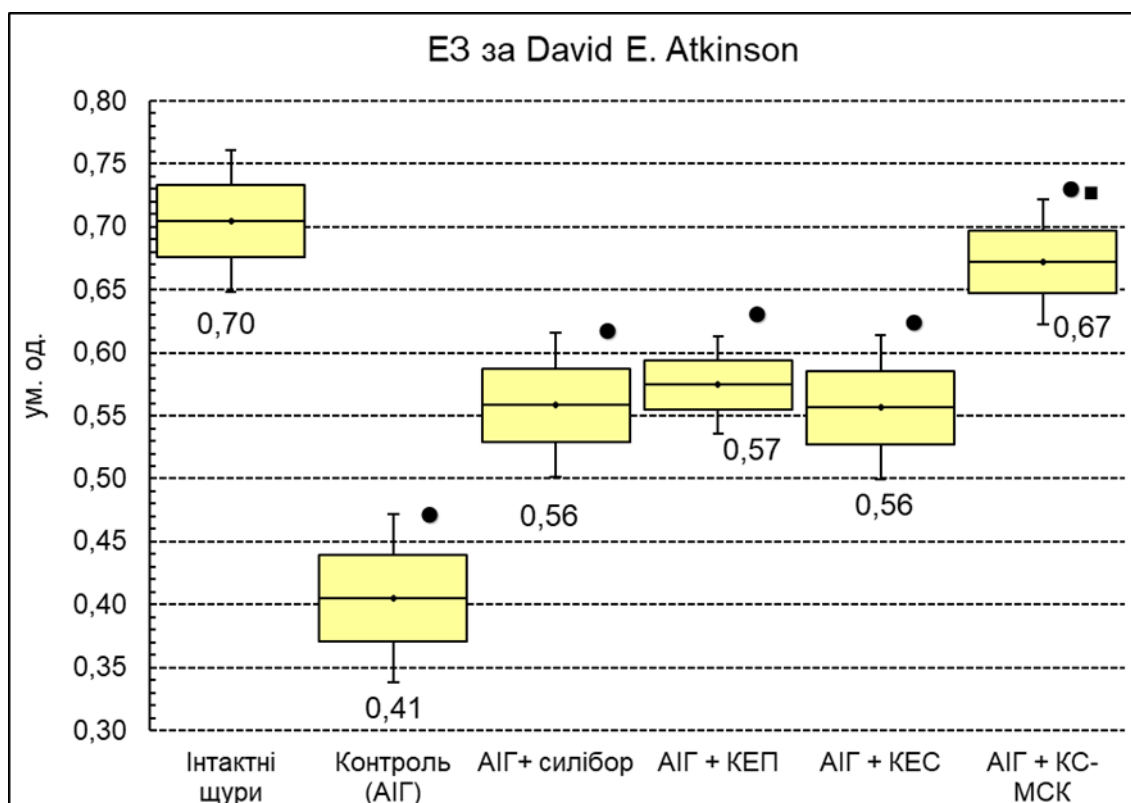


Рис. 8.6 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах печінки щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ (контрольна група).

Оцінка здатності досліджуваних БКБЗ відновлювати енергетичний обмін на тлі АІГ у щурів показала, що з досліджуваних кріоекстрактів КЕС співставлявся за ефективністю з референс-препаратом силібором. Так, на тлі введення КЕС АЕЗ статистично вірогідно ($p<0,01$) зріс на 37,3% відносно показників щурів контрольної групи та становив $0,56\pm0,03$ ум. од. (див. рис. 8.6). Варто зазначити, що на відміну від силібору, введення КЕС супроводжувалось в 1,3 рази більшим зростанням рівня АТФ (72,0% проти 54,7%), проте менш виразно відновлювались до вихідних показників рівні АМФ та АДФ (див. табл. 8.5).

Доведено, що застосування КЕП у щурів з АІГ показало більш виразну, ніж введення КЕС, здатність нормалізувати енергетичний обмін у гепатоцитах. Встановлено, що на тлі введення КЕП рівень АТФ зріс ($p<0,001$) на 89,3%, рівень АДФ зріс ($p=0,08$) на 50,0%, а рівень АМФ знизився ($p<0,01$) на 24,8% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 8.5). Отримані дані узгоджувались з результатами досліджень [428].

Найвиразніші зміни показників енергетичного обміну виявлено на тлі застосування КС-МСК. Встановлено, що у тварин з АІГ, яким вводили КС-МСК, рівень АТФ зріс ($p<0,001$) на 102,7%; рівень АДФ зріс ($p=0,09$) на 83,3%, а рівень АМФ знизився ($p<0,01$) на 58,1% відносно показників нелікованих щурів з АІГ (див. табл. 8.5). Варто зазначити, що на тлі введення КС-МСК відзначено найвиразніше зростання АЕЗ – вказаний показник статистично вірогідно ($p<0,001$) підвищився на 65,8% відносно показників нелікованих тварин з АІГ та становив $0,67\pm0,03$ ум. од. (див. рис. 8.6).

8.6 Характеристика клітинного циклу гепатоцитів при застосування КЕП, КЕС та КС-МСК на моделі АІГ

Протоковою ДНК-цитометрією встановлено, що при АІГ відбувається статистично вірогідне ($p=0,007$) зменшення частки гепатоцитів у фазі клітинного циклу G0G1 на 12,7% на тлі зростання частки клітин у фазі S та у фазі G2M відповідно на 28,7% ($p=0,037$) та 13,0% ($p=0,3$) відносно показників інтактних щурів (табл. 8.6).

Таблиця 8.6

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на клітинний цикл гепатоцитів
щурів з АІГ на 52 день експерименту, % ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Частка клітин у фазі G0G1 клітинного циклу, %	71,5±1,7 (95 % ДІ: 68,2–74,7)	62,4±2,2 (95 % ДІ: 58,0–66,7) $p_1=0,007$ [12,7%]	65,3±0,7 (95 % ДІ: 63,8–66,7) $p_2=0,3$ [4,6%]	69,9±1,4 (95 % ДІ: 67,1–72,7) $p_2=0,018$ [12,0%] $p_3=0,019$ [7,0%]	71,7±0,6 (95 % ДІ: 70,6–72,8) $p_2=0,002$ [15,0%] $p_3<0,001$ [10,5%]	74,9±1,3 (95 % ДІ: 72,3–77,4) $p_2<0,001$ [20,1%] $p_3<0,001$ [14,8%]
Частка клітин у фазі S клітинного циклу, %	2,5±0,17 (95 % ДІ: 2,2–2,9)	3,3±0,26 (95 % ДІ: 2,8–3,8) $p_1=0,037$ [28,7%]	3,0±0,20 (95 % ДІ: 2,6–3,4) $p_2=0,4$ [8,3%]	2,8±0,25 (95 % ДІ: 2,4–3,3) $p_2=0,3$ [13,1%] $p_3=0,6$ [5,2%]	3,0±0,23 (95 % ДІ: 2,6–3,5) $p_2=0,5$ [7,4%] $p_3=0,9$ [1,0%]	2,2±0,17 (95 % ДІ: 1,8–2,5) $p_2=0,004$ [33,6%] $p_3=0,009$ [27,6%]
Частка клітин у фазі G2M клітинного циклу, %	22,5±1,8 (95 % ДІ: 19,0–25,9)	25,4±2,1 (95 % ДІ: 21,3–29,5) $p_1=0,3$ [13,0%]	24,4±1,1 (95 % ДІ: 22,3–26,6) $p_2=0,7$ [3,8%]	22,8±1,4 (95 % ДІ: 20,1–25,5) $p_2=0,3$ [10,1%] $p_3=0,4$ [6,6%]	20,4±0,6 (95 % ДІ: 19,2–21,6) $p_2=0,039$ [19,8%] $p_3=0,007$ [16,6%]	20,4±1,3 (95 % ДІ: 17,8–22,9) $p_2=0,1$ [10,7%] $p_3=0,035$ [16,6%]

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Наведені зміни клітинного циклу гепатоцитів при АІГ вказують на зменшення клітин у фазі «спокою», що може бути зумовлено як зниженням проліферативного потенціалу гепатоцитів під впливом аутоімунних каскадів, так і прямим цитотоксичним впливом на гепатоцити. Як відомо, після завершення поділу клітини можуть або перейти до фази G1 для відновлення наступного раунду клітинного циклу, або залишатися в стані спокою у фазі G0. У фазі G1 клітина збільшується в розмірах, починає транскрипцію генів контролю клітинного циклу (наприклад, циклінів) і синтезує білки, проводячи серію перевірок перед синтезом ДНК [678, 679].

Компенсаторне збільшення частки гепатоцитів у S та G2M фазах вказує на активацію регенеративного потенціалу печінки, проте воно нездатне забезпечити відновлення клітинного складу, попри співставні відсоткові зміни у частках клітин G0G1 фази (–12,7%) та G2M фази (+13,0%), оскільки на тлі розвитку АІГ у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання частки клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1) у 2,6 рази відносно аналогічного показника в інтактних щурів, що становило відповідно $9,0 \pm 0,41\%$ (рис. 8.7). Встановлене кратне зростання частки клітин SubG0G1 вказує на індукцію загибелі гепатоцитів при АІГ у щурів.

Процес запрограмованої загибелі клітин, або апоптоз, зазвичай характеризується різними морфологічними характеристиками та енергозалежними біохімічними механізмами, і найчастіше саме він розглядається наслідком зростання частки клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1). Варто зазначити, що за даними *Huang X. та співавт.* [680], кожен ядерний фрагмент, хромосома або мікроядро реєструється проточним цитометром як окремий об'єкт, що характеризується вмістом «SubG0G1» ДНК, і тому часто помилково класифікується як окрема апоптотична клітина. Це зміщення є особливо очевидним, коли для відображення вмісту ДНК на гістограмах використовується логарифмічна шкала, яка дозволяє записувати події лише з 1% або навіть 0,1% вмісту ДНК у клітині G1. Такі події, звичайно, не можна класифікувати як окремі апоптотичні ядра.

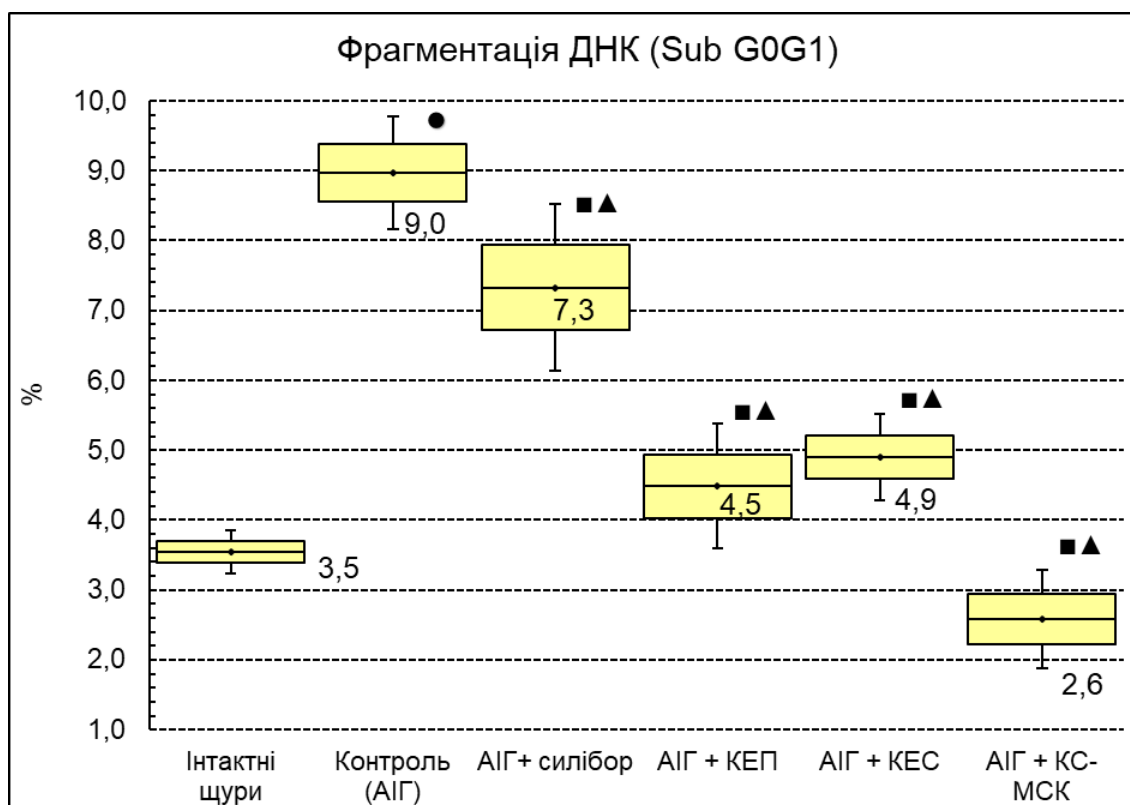


Рис. 8.7 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на фрагментацію ядерної ДНК гепатоцитів щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ (контрольна група);
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ, яким вводили силібор.

Зазначені зміни у співвідношенні кількості гепатоцитів за фазами клітинного циклу призвели до зростання на 21,7% ($p=0,08$) інтегральної характеристики регенеративного потенціалу – ПІ (рис. 8.8). Зростання ПІ може вказувати на активацію компенсаторних механізмів у відповідь на аутоімунну агресію, спрямовану на клітини печінки при АІГ.

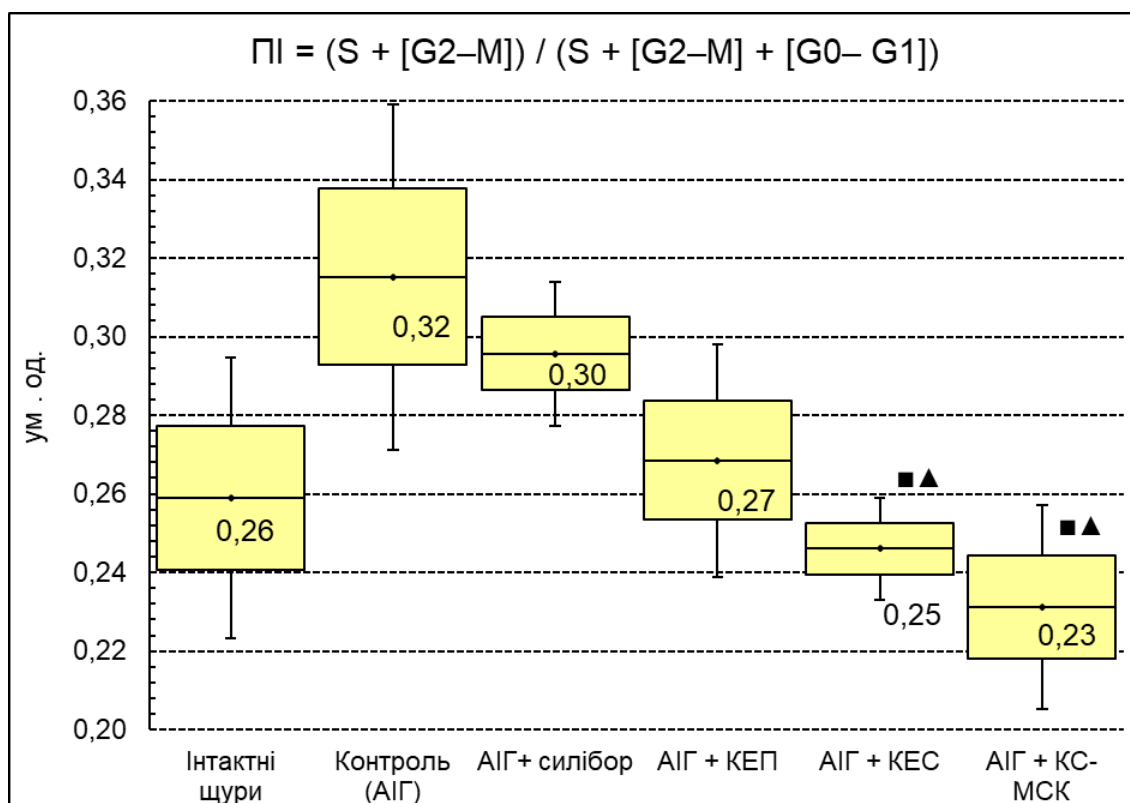


Рис. 8.8 Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення проліферативного індексу гепатоцитів щурів з АІГ

Примітки.

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ (контрольна група);
5. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ, яким вводили силібор.

На тлі введення референс-препарату силібору встановлено статистично вірогідне ($p=0,045$) зменшення частки гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1) на 18,3% відносно показників нелікованих тварин з АІГ (див. табл. 8.6), що узгоджується з даними літератури про гепатопротетекорні властивості вказаного препарату [577, 579].

Дослідження впливу БКБЗ на клітинний цикл гепатоцитів щурів з АІГ показало, що за здатністю зменшувати частку клітин з фрагментованою ДНК досліджувані біотехнологічні препарати перевищували за ефективністю референс-препарат силібор. Так, на тлі введення КЕП частка клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1) статистично вірогідно ($p < 0,001$) зменшилась вдвічі, на тлі введення КЕС – зменшилась ($p < 0,001$) на 45,4%, а найбільше зменшення кількості клітин блоку SubG0G1 відмічено на тлі введення КС-МСК – досліджуваний показник статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 71,2% відносно показників тварин контрольної групи (АІГ без лікування).

Крім того встановлено зростання частки гепатоцитів у фазі G0G1 на 12,0% ($p = 0,018$), на 15,0% ($p = 0,002$) та на 20,1% ($p < 0,001$) відносно показників щурів контрольної групи, що вказувало на нівелювання цитолітичної дії, опосередкованої введенням антигенної гепатотропної суміші, що призвело до збільшення частки клітин у фазі «спокою» та росту.

Варто зазначити, що на тлі введення КС-МСК відмічено найвиразніше збільшення кількості гепатоцитів у S-фазі клітинного циклу, коли відбувається редуплікація ДНК, що вказує на активний поділ клітин під дією вказаного біологічного засобу. Так, на тлі введення КС-МСК частка клітин у S-фазі статистично вірогідно ($p = 0,004$) зросла на 33,6% відносно показників нелікованих щурів з АІГ (див. табл. 8.6). Досліджувані кріоекстракти чинили значно слабший вплив на підготовку до поділу гепатоцитів. Так, на тлі введення КЕП у щурів з АІГ частка клітин у S-фазі за даними ДНК-цитометрії зросла лише на 13,1%, а на тлі введення КЕС – зросла на 7,4% відносно показників щурів контрольної групи, і жоден із вказаних показників не сягнув рівня статистичної значущості – $p = 0,3$ та $p = 0,5$ відповідно (див. табл. 8.6)

Оцінка активізації компенсаторної траєкторії підготовки до мітозу та власне мітозу (G2M-фаза), зумовленого загибеллю клітин, виходячи з даних наведених вище щодо кількості клітин із фрагментованою ДНК (SubG0G1)), показала, що на тлі застосування досліджуваних БКБЗ, як і референс-

препарату силібору, відмічалось зниження необхідності компенсаторного спрямування гепатоцитів за мітотичною траєкторією. Дослідження показало, що на тлі введення КЕП частка клітин у G2M-фазі знизилась на 10,1% ($p=0,3$), на тлі введення КС-МСК – аналогічний показник знизився на 10,7% ($p=0,1$), а найвиразніше частка клітин у G2M-фазі статистично вірогідно ($p=0,039$) знизилась на 19,8% відносно показників щурів контрольної групи на тлі застосування КЕС (див. табл. 8.6)

Висновки до розділу 8

1. На тлі розвитку АІГ у щурів відмічалось зростання ($p<0,001$) рівня загального білірубіну на 148,9%, зростання вмісту ТБК-РП ($p<0,001$) на 172,5%, зниження ($p=0,004$) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% ($p=0,4$) активності каталази.
2. За здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності (за % зниження загального білірубіну відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (52,6%; $p<0,001$) > КЕП (49,6%; $p<0,001$) > КЕС (40,2%; $p<0,001$).
3. За здатністю відновлювати баланс у системі ПОЛ-АОС досліджувані БКБЗ можна розташувати у послідовності (% зростання АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$).
4. На тлі розвитку АІГ у щурів відмічене формування цитолітичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне зростання рівня АлАт на 66,7% ($p=0,015$) та зростання рівня АсАт на 85,0% ($p<0,001$) відносно аналогічних показників інтактних тварин, що супроводжувалося статистично вірогідним ($p=0,002$) зростанням на 52,3% активності γ -ГТП та зростанням ($p=0,01$) на 36,5% активності ЛФ.

5. Застосування досліджуваних БКБЗ призвело до виразного ослаблення ознак цитолітичного синдрому у щурів з АІГ. Найвиразніше рівень АлаТт знизився на тлі застосування КЕП та КС-МСК – активність вказаного ензиму знизилась відповідно на 35,0% ($p < 0,05$) в обох випадках, активність АсАт найвиразніше статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на тлі застосування КС-МСК. Найвиразніше зниження активності γ -ГТП відзначено на тлі введення КЕП та КС-МСК – активність знизилась відповідно на 27,1% ($p = 0,024$) та на 27,4% ($p = 0,012$) відносно показників щурів контрольної групи. Найвиразніше зниження активності ЛФ у щурів з АІГ відмічено на тлі введення КС-МСК – на 27,9% ($p = 0,009$) відносно показників нелікованих щурів з АІГ.
6. У щурів з АІГ відмічено порушення синтезу білка печінкою, на що вказувало статистично вірогідне ($p = 0,03$) зниження рівня ЗБ в сироватці крові на 10,4%, зниження рівня альбуміну ($p < 0,001$) на 30,0% та зниження ($p = 0,1$) рівня глобулінів на 13,2% відносно показників інтактних тварин. Встановлене непропорційне зниження за окремими фракціями ЗБ призвело до статистично вірогідного ($p = 0,003$) зниження А/Г-співвідношення на 38,5% відносно показників інтактних щурів. На тлі застосування КС-МСК рівень ЗБ статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 20,2% відносно показників тварин групи контролю та становив $72,1 \pm 1,6$ г/л, що на 14,3% статистично вірогідно перевищувало ($p = 0,01$) аналогічний показник тварин, яким вводили референс-препарат силібор. За здатністю відновлювати рівень А/Г-співвідношення у щурів з АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності: КЕС (72,9%; $p = 0,003$) > КС-МСК (51,7%; $p = 0,005$) > КЕП (36,2%; $p = 0,009$).
7. Розвиток АІГ у щурів супроводжувався статистично вірогідним зниженням рівня АТФ на 55,1% ($p < 0,001$) та зниженням рівня АДФ на 57,1% ($p = 0,1$), а також зростанням у 2,6 рази ($p < 0,01$) рівня АМФ у

гепатоцитах відносно показників інтактних щурів. За здатністю відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах щурів з АІГ досліджувані БКБЗ доцільно розташувати у послідовності (за % зміни рівня АЕЗ відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (+65,8%; $p < 0,001$) > КЕП (+41,7%; $p < 0,01$) > КЕС (+37,3%; $p < 0,01$).

8. ДНК-цитометрія показала, що застосування БКБЗ призвело до відновлення, індукованих АІГ, порушень клітинного циклу гепатоцитів. Встановлено, що за здатністю зменшувати частку гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1), досліджувані БКБЗ доцільно розташувати (за % зменшення кількості гепатоцитів з фрагментованою ДНК відносно показників щурів контрольної групи): КС-МСК (71,2%; $p < 0,001$) > КЕП (50,0%; $p < 0,001$) > КЕС (45,4%; $p < 0,001$).

Основні положення цього розділу викладено у 11 публікаціях автора [37, 38, 41, 62, 63, 67, 78, 79, 80, 81, 90].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Імунна система людини – це життєво важливий захисний механізм, який включає імунні органи, клітини та молекули, що відіграють вирішальну роль у виявленні та знищенні сторонніх патогенів, підтримуючи при цьому стабільність внутрішнього середовища та фізіологічний баланс організму. Однак, коли імунна система скомпрометована, вона може генерувати відповіді проти власних антигенів, що призводить до атаки нормальних клітин тканин і розвитку АІЗ [681, 682, 683].

Незважаючи на те, що всі АІЗ мають спільну патофізіологічну основу розвитку, їх клінічні прояви можуть варіюватися від легких відхилень у лабораторних показниках до станів, що загрожують життю, таких як недостатність органів після серйозного пошкодження тканин [684, 685]. Залежно від походження їхнього прояву, АІЗ, як зазначалось, можуть бути обмежені одним органом (органоспецифічні АІЗ), наприклад, ЩЗ при тиреоїдиті Хашимото або підшлунковою залозою при цукровому діабеті 1 типу або, з іншого боку, впливають на численні органи та тканини в організмі, як при СЧВ або РА. Обидва типи АІЗ можуть проявлятися широким спектром симптомів і можуть бути складними для діагностики та лікування [684, 686].

Попри низку відмінностей у патогенезі та клінічних проявах АІЗ, існує також багато подібностей. Вважається, що аутоімунні розлади мають три фази [687]. У першій так званій **(I) фазі «імунізації»** пацієнти зазвичай ще не мають клінічних симптомів [688]. Часто генетичні фактори (модифіковані алелі) і тригери навколишнього середовища (наприклад, куріння, УФ-випромінювання та мікробні інфекції) разом спричиняють розвиток аутоіmunітету [688]. Цей процес призводить до втрати імунної толерантності до власних антигенів через появу аутореактивних Т-лімфоцитів, які уникають центральної толерантності [689]. Як наслідок, самореактивні Т-лімфоцити

можуть сприяти розвитку аутореактивних В-лімфоцитів і виробленню аутоантитіл [689].

Під час **(II) проміжної фази (фаза поширення)** відбуваються складні імунологічні процеси, такі як утворення або відкладення імунних комплексів (наприклад, у суглобах або нирках) та початок рекрутингу імунних клітин [690, 691]. Клінічний стан пацієнтів зумовлюється самовідновлюваним запаленням і пошкодженням тканини внаслідок вироблення цитокінів, поширення епітопу та порушення балансу ефektorних Т-клітин (Teff) та T-reg [688].

Як наслідок вказаних вище процесів у **(III) ефektorній фазі** багато типів клітин активуються та ініціюють клітинні відповіді. Ці ефektorні функції опосередковують пошкодження тканин господаря та підтримують хронічне запалення.

Виходячи з вказаних етапів патогенезу АІЗ, препарати-кандидати, націлені на загальні фактори, що беруть участь, можуть мати сприятливий ефект при лікуванні різних аутоімунних розладів [687]. Розуміння та успішне лікування хворих на АІЗ залишається серйозною проблемою, але на сьогодні вже досягнуто неймовірного прогресу. Цільове інгібування цитокінів поклало початок **епосі біологічної терапії** при АІЗ, але, здається, ми все ще перебуваємо на ранніх стадіях, коли розробляється багато нових захоплюючих методів лікування [688].

Як відомо, основним механізмом аутоімунітету є неповноцінне усунення та/або контроль самореактивних лімфоцитів. Точні причини аутоімунітету до кінця не вивчені. Незважаючи на наявність відомих генетичних і епігенетичних факторів схильності, фактори навколишнього середовища вважаються важливим тригером аутоімунної відповіді [684]. В той же час, якщо недостатність толерантності є основною аномалією АІЗ, центральним питанням стає те, які механізми толерантності дають збій при конкретних захворюваннях і чому? [688].

Особливу увагу до АІЗ у останні роки прикуто, зокрема, і через глобальну пандемію COVID-19, зумовлену SARS-CoV-2. Адже вірусні інфекції часто називають важливими факторами навколишнього середовища для АІЗ [692]. Історично склалося так, що вірусні інфекції мали складний зв'язок із різними АІЗ, такими як СЧВ, РА, синдром Шегрена, системний васкуліт, целиакія та РС [693, 694, 695]. Механізми, що лежать в основі зв'язку між вірусами та аутоімунітетом, залишаються недостатньо вивченими. Традиційно перехресно реактивне розпізнавання Т-клітин, відоме як молекулярна мімікрія, а також активація Т-клітин стороннім спостерігачем, що завершується поширенням епітопу, були переважаючими механізмами, за допомогою яких інфекція може призвести до опосередкованої Т-клітинами аутоімунної відповіді [693]. Подібно до інфекцій, введення вакцин теж було пов'язане з розвитком аутоімунітету [696].

Світова статистика пандемії (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>) вказує на понад 704 млн встановлених випадків інфікування COVID-19, які, на нашу думку, допустимо розглядати як хворих групи ризику на АІЗ.

В той же час, епідеміологічні дані поширеності АІЗ вказують на те, що хворіють близько 7,6–9,4% населення планети, тобто близько 696 млн хворих на АІЗ на 8,2 млрд. населення світу [697].

Співставляючи абсолютні показники у 704 млн хворих на COVID-19 та 696 млн хворих на АІЗ, та взявши до уваги дані [698] щодо частоти запальних ревматичних захворювань, які почались після інфікування SARS-CoV-2, а це становить 12,5%, ми можемо зробити припущення про потенційні 88 млн нових хворих на ревматичні захворювання – тобто потенційне зростання кількості АІЗ тільки за рахунок зазначеної патології на 12,6% (88 млн до 696 млн наявних).

Прогнозоване зростання глобальної захворюваності на АІЗ вочевидь робить вкрай актуальним пошук нових інноваційних підходів до лікування хворих на вказані захворювання. Враховуючи новий контекст, вбачаються

особливі перспективи в розвитку біологічних препаратів або персоналізованих методів лікування для пацієнтів із АІЗ у майбутньому.

У проведеній роботі нами запропоновано та комплексно розроблено інноваційний підхід до підвищення ефективності та безпеки медикаментозної терапії шести поширених АІЗ (АА, АЕМ, АІТ, АІМ, АІН та АІГ) за допомогою БКБЗ – КЕП, КЕС та КС-МСК (рис. 9.1).



Рис. 9.1 Структура проведеного дослідження ефективності БКБЗ при АІЗ

Отримані результати дослідження підтверджують високу ефективність БКБЗ у лікуванні запальних та ноцицептивних розладів при експериментальному артриті у щурів. КЕП виявився найбільш ефективним серед досліджених препаратів за протизапальною активністю. Величина зменшення об'єму набряклої кінцівки на 28 день становила 56,5%, що дуже близько до результату референс-препарату ДН (68,8%). Це свідчить про високий потенціал КЕП у зменшенні набряку та запалення. Однак, дещо менша ефективність КЕП порівняно з ДН може бути пов'язана з механізмами його дії, які можуть відрізнятися від класичних НПЗЗ.

КЕС продемонстрував помірніший ефект, зниження об'єму кінцівки на 28 день склало 43,3%, що вказує на його ефективність, але меншою мірою, ніж

у КЕП і ДН (табл. 9.1). Це може свідчити про те, що КЕС не має такої вираженої протизапальної активності, однак його застосування може бути корисним в умовах, де необхідне помірне зменшення запалення.

Таблиця 9.1

**Протизапальна та знеболююча активність безклітинних
кріоконсервованих біологічних засобів та ДН на моделі АА у щурів**

Досліджувані засоби	Протизапальна активність	Аналгетична активність	
		Спінальний рівень	Супраспінальний рівень
ДН (референс-препарат)	68,8%	60,4%	86,0%
КЕП	56,5%	43,1%	44,7%
КЕС	43,3%	38,0%	28,9%
КС-МСК	47,3%	42,7%	54,8%

КС-МСК виявив активність, яка наближалася до ефекту КЕП, з ПЗА 47,3%, що також підтверджує його ефективність у зменшенні набряку. Це свідчить про те, що КС-МСК є потенційно ефективним препаратом для лікування запальних процесів, при цьому дещо поступаючись КЕП у вираженості ефекту.

Результати оцінки знеболюючої активності показали відмінності між препаратами за їх дією на спінальному та супраспінальному рівнях. КЕП і КС-МСК продемонстрували подібні результати на спінальному рівні, де поріг больової чутливості зріс на 43,1% і 42,7% відповідно (див. табл. 9.1). Це вказує на те, що ці препарати мають ефективність у зниженні болю на периферичному рівні, зокрема, через модуляцію больової ноцицепції у тканинах і нервовій системі.

У референс-препарату ДН ефективність була вищою, зростання ПБЧ на 60,4% на 28 день є значним показником його здатності блокувати больові сигнали на спінальному рівні. Це робить ДН найефективнішим препаратом серед усіх досліджених за знеболюючою активністю на спінальному рівні.

Цікавіше виглядають результати на супраспінальному рівні, де КС-МСК продемонстрував значне підвищення ПБЧ на 54,8%, що вказує на його ефективність у зниженні болю в центральній нервовій системі. Це також підтверджує, що КС-МСК може мати сильний ефект на центральну сенсibilізацію, зменшуючи біль через активацію або інгібування нейроімунних шляхів. Проте, це зростання ПБЧ не перевищувало ефект ДН, що підтверджує високий знеболюючий потенціал останнього. Зокрема, введення КЕП також виявило помітне зростання ПБЧ (на 44,7%), що вказує на його здатність знижувати біль на рівні центральної нервової системи, але дещо меншою мірою, ніж у КС-МСК.

Натомість, КЕС продемонстрував найменший ефект на знеболення на супраспінальному рівні (зростання ПБЧ лише на 28,9%). Це може вказувати на те, що КЕС має більш обмежену здатність модуляції центральної сенсibilізації, а його ефективність, ймовірно, обмежується переважно периферичними механізмами (див. табл. 9.1).

Таким чином, результати дослідження підтверджують високий потенціал БКБЗ, зокрема КЕП і КС-МСК, для зменшення запалення та болю у тварин на моделі артриту. Найбільш виразну ефективність за протизапальною і знеболюючою активністю продемонстрував КЕП, хоча йому поступаються КС-МСК і ДН.

Застосування досліджуваних БКБЗ також призводило до нормалізації гематологічних показників, зокрема рівня еритроцитів. Найбільш виразне відновлення вмісту еритроцитів спостерігалось на тлі введення КС-МСК, що дозволило досягти рівня $5,6 \pm 0,37 \times 10^{12}/\text{л}$, що не лише співставляється з показниками інтактних тварин ($5,9 \pm 0,26 \times 10^{12}/\text{л}$), але й на 77,3% ($p < 0,001$) перевищує рівень еритроцитів у тварин контрольної групи ($3,1 \pm 0,26 \times 10^{12}/\text{л}$). Це свідчить про високу ефективність КС-МСК у корекції анемії, спричиненої хронічним запаленням, і вказує на здатність препарату нормалізувати процеси еритропоезу у контексті АА.

Введення кріоекстрактів також сприяло підвищенню вмісту еритроцитів, однак ефект був менш виражений порівняно з КС-МСК. Так, при застосуванні КЕП рівень еритроцитів зріс на 45,5% ($p<0,05$), а при використанні КЕС зріс на 65,6% ($p<0,001$) порівняно з показниками нелікованих щурів. Це вказує на те, що хоча кріоекстракти теж мають терапевтичний потенціал, їх ефективність у відновленні еритропоезу є меншою порівняно з КС-МСК.

Щодо запального процесу то найвищу протизапальну активність за даними біохімічних досліджень продемонструвало КС-МСК. У результаті застосування цього препарату спостерігалось значне зниження рівня лейкоцитів до $9,9\pm0,63\times10^9/\text{л}$ та зниження ШОЕ до $5,7\pm0,64$ мм/год, що на 53,4% ($p<0,001$) та 69,0% ($p<0,001$) відповідно нижче за показники контрольної групи. Це свідчить про виражений протизапальний ефект КС-МСК, здатний значно знижувати запальну активність у щурів із АА.

Оцінка інших БКБЗ показала, що КЕП та КЕС також мали вплив на зменшення запалення, але їх ефективність була дещо нижчою порівняно з КС-МСК. Зокрема, при введенні КЕП зниження рівня лейкоцитів склало 39,9% ($p<0,001$), а при використанні КЕС – 32,4% ($p<0,001$), що є статистично вірогідними змінами.

Біохімічні показники підтвердили ці результати. Зокрема, рівень С-РБ у тварин контрольної групи зріс у 4,4 рази ($p<0,001$) порівняно з інтактними тваринами, що є типовим для хронічних запальних процесів. Найвиразніше зниження рівня С-РБ було на фоні застосування КС-МСК, де спостерігалось зниження на 54,5% ($p<0,001$) порівняно з нелікованими тваринами, що вказує на високий потенціал цього препарату в пригнічення системного запалення.

Активність ЛФ та вміст серомукоїду також свідчать про ефективність КС-МСК у зменшенні запального процесу. При використанні КС-МСК активність ЛФ знизилася на 38,5% ($p<0,001$), а рівень серомукоїду – на 47,8% ($p<0,035$) порівняно з контролем. Це підтверджує його значну протизапальну активність. Зниження вказаних показників на тлі застосування КС-МСК було

значно більшим, ніж при застосування ДН, що показує потенціал КС-МСК як більш ефективного лікувального засобу.

Водночас, кріоекстракти мали дещо меншу ефективність. КЕС показав зниження рівня С-РБ на 18,2% ($p < 0,01$), а КЕП – на 27,3% ($p < 0,01$), що свідчить про більш виражену протизапальну активність КЕП порівняно з КЕС. Зниження активності ЛФ при введенні кріоекстрактів було на рівні 30,8–32,9% ($p < 0,001$), що незначно перевищувало ефективність референс-препарату ДН (на 6,2–9,0%).

Таким чином, результати дослідження демонструють, що застосування БКБЗ, зокрема КС-МСК, є перспективним для лікування хронічних запальних процесів та супутньої анемії, оскільки ці БКБЗ сприяють значному зменшенню запалення та покращенню гематологічних показників. Препарати кріоекстрактів також показали ефект, але їх терапевтичний потенціал дещо поступається КС-МСК, що може свідчити про важливість подальших досліджень для уточнення оптимальних умов їх застосування.

Оскільки рівень ейкозаноїдів та цитокінів є основними маркерами запального процесу, зниження їх концентрації виявилось важливим показником ефективності терапії. Отримані дані про вплив КС-МСК на рівень ейкозаноїдів демонструють значне зниження запальних маркерів. Так, рівень ПГЕ2 знизився на 24,8% ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, що є статистично значущим результатом і свідчить про здатність препарату пригнічувати запалення, оскільки ПГЕ2 відіграє важливу роль у процесах запалення і болю при артритах. Зниження рівня ТхВ2 на 30,3% ($p < 0,01$) і ЛТВ4 на 25,6% підтверджує, що КС-МСК може ефективно впливати на ланки запального каскаду, що веде до зменшення пошкодження тканин і болю в суглобах.

Оцінка цитокінового профілю вказує на виразну активність КС-МСК у регуляції *прозапальних цитокінів*. Найбільше зниження рівня ІЛ-1 β , важливого маркера запалення, було відзначено після введення КЕС, що знижував рівень цього цитокіну на 42,2% ($p < 0,001$). Однак, ефект КС-МСК

також був статистично значущим – зниження рівня ІЛ-1 β на 31,0% ($p<0,001$) наближалось до ефекту референс-препарату. Схожий тренд спостерігався і для інших прозапальних цитокінів. Так, рівень ІЛ-17 знизився на 28,6% ($p<0,01$) при введенні КЕП, а рівень ФНП- α зменшився на 53,5% ($p<0,001$) при застосуванні КС-МСК. Це свідчить про здатність КС-МСК знижувати активність запальних процесів через інгібування основних медіаторів запалення, що може мати значний терапевтичний потенціал при лікуванні хронічних запальних захворювань, таких як ревматоїдний артрит.

Дослідження рівнів *протизапальних цитокінів* ІЛ-4 і ІЛ-10 показало, що рівень ІЛ-4 зростав на 94,9% ($p<0,001$), а ІЛ-10 – на 150,7% ($p<0,001$) у щурів з хронічним артритом, що підтверджує активацію компенсаторних механізмів. Однак, вплив БКБЗ на ці цитокіни був менш виразним. Найбільше зниження рівня ІЛ-4 спостерігалось при введенні КЕП (на 31,3%, $p=0,004$), а рівень ІЛ-10 знизився на 20,5% ($p=0,002$) при введенні КЕС. Водночас, на тлі введення КС-МСК рівень ІЛ-4 не змінювався суттєво, а рівень ІЛ-10 мав тенденцію до зниження, що свідчить про те, що ефективність КС-МСК у регуляції протизапальних цитокінів є менш вираженою порівняно з іншими БКБЗ.

Щодо інших цитокінів, таких як ІЛ-2 і ІЛ-6, то введення КС-МСК призвело до незначного статистично вірогідного зниження рівня ІЛ-2 на 10% ($p<0,01$) і рівня ІЛ-6 на 21,5% ($p=0,003$), що також підтверджує протизапальний ефект препарату. Найбільший ефект у зниженні рівня ІЛ-6 був досягнутий при введенні ДН – на 57,7% ($p<0,001$), що вказує на перевагу референс-препарату у впливі на цей цитокін.

Таким чином, КС-МСК показав ефективність, наближену до ефектів референс-препарату ДН, що підкреслює його потенціал для подальших клінічних досліджень і можливого застосування в лікуванні РА та інших запальних захворювань.

Узагальнюючи результати цілісного комплексу досліджень на моделі АА у щурів виявлено значний терапевтичний потенціал БКБЗ у лікування РА.

Як зазначалось вище, КС-МСК продемонструвало високу ефективність у зменшенні запалення та нормалізації гематологічних показників, зокрема зниження рівня лейкоцитів та ШОЕ, а також нормалізації рівня еритроцитів у щурів. Крім того, КС-МСК ефективно регулює рівень прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α), що свідчить про його потенціал у лікуванні хронічних запальних процесів. Серед інших БКБЗ, КЕП показав високу протизапальну активність, хоча й поступається КС-МСК. КЕС виявив меншу ефективність як за протизапальною, так і за знеболюючою активністю. Проте всі БКБЗ продемонстрували здатність зменшувати запалення та покращувати загальний стан тварин на моделі артриту. Провідним механізмом протизапальної та знеболюючої активності БКБЗ виступає їх імуномодуючий ефект (рис. 9.2).

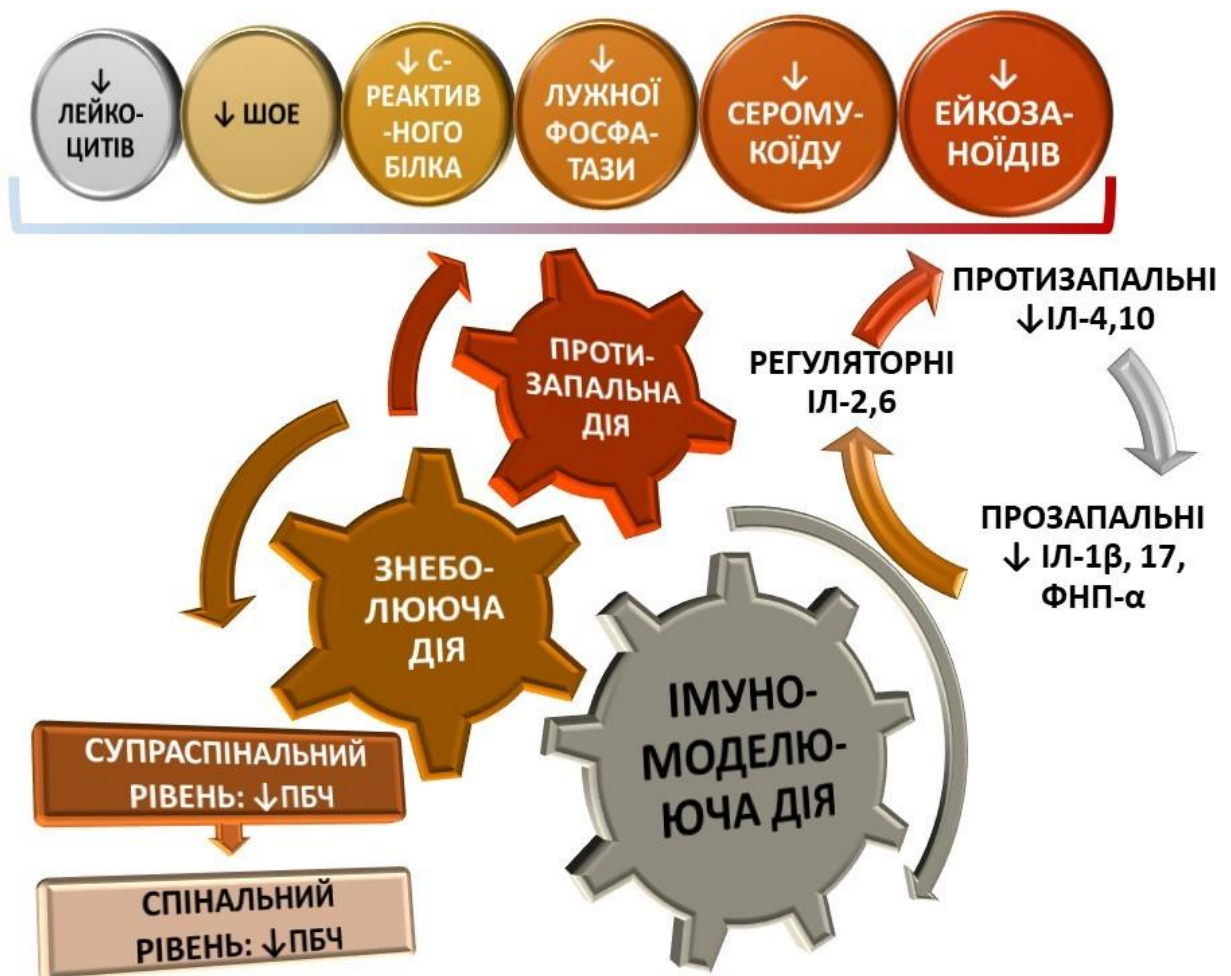


Рис. 9.2 Патогенетичні механізми терапевтичної дії БКБЗ при експериментальному РА

Оцінка ефективності БКБЗ при експериментальному аутоімунному ураженні ГМ на моделі АЕМ показала, що застосування БКБЗ значно поліпшує неврологічні функції у тварин, при цьому кожен препарат виявив свою специфічну ефективність щодо збереження та відновлення окремих функціональних параметрів, таких як м'язова сила, рухова, дослідницька та емоційна активність.

Використання КС-МСК виявилось найбільш ефективним у збереженні м'язової сили, що є критичним для пацієнтів із нейродегенеративними захворюваннями, такими як РС. Збереження м'язової сили є важливим аспектом терапії, оскільки прогресуюча м'язова слабкість є одним із основних симптомів при АЕМ. Результати експерименту показали, що введення КС-МСК призводить до зупинки втрати м'язової сили, фактично підтримуючи її на рівні початкових значень, що свідчить про високий нейропротективний потенціал цього препарату. Це може бути пов'язано з його здатністю знижувати рівень лактату та покращувати енергетичні процеси в мозку, що сприяє відновленню нормальної функції нервових клітин та зниженню метаболічного навантаження на нейрони в умовах запалення.

Однак, незважаючи на високі показники ефективності КС-МСК, інші досліджувані препарати також продемонстрували позитивний ефект, хоча і меншою мірою (табл. 9.2). Зокрема, КЕП та КЕС, хоча й забезпечили відновлення м'язової сили, поступались за цим параметром МП та КС-МСК. Це може бути пов'язано з тим, що кожен із кріоекстрактів має свої унікальні механізми дії, спрямовані на відновлення різних аспектів нервової системи, але не завжди здатні забезпечити таку ж високу ефективність у збереженні м'язової функції, як препарати, що сприяють більш загальному протизапальному ефекту, як МП.

Що стосується рухової активності, то на тлі застосування КС-МСК спостерігалось найбільше відновлення, причому рухова активність тварин на 21 день експерименту практично досягла початкових значень. Це свідчить про те, що КС-МСК не тільки зменшує запалення, а й активує процеси

нейропластичності, що важливо для відновлення моторних функцій. Препарат не лише сприяє збереженню фізичних можливостей організму, але й підтримує загальний рівень рухової активності, що може свідчити про вплив на механізми, пов'язані з координацією рухів і моторною пам'яттю. Водночас, препарати КЕП і КЕС проявили меншу ефективність у відновленні рухової активності, що також може бути зумовлено їх специфічною дією, спрямованою на інші аспекти функціонування нервової системи.

Таблиця 9.2

**Узагальнена кількісна характеристика факторів
нейропротективної активності БКБЗ при АЕМ**

Умови дослідю → Показник ↓	АЕМ	АЕМ +КЕП	АЕМ +КЕС	АЕМ+ КС-МСК
М'язовий тонус	-73,8% ($p_1=0,009$)	+53,3% ($p_2<0,03$)	+61,3% ($p_2<0,01$)	+3,1% ($p_2=0,37$)
Рухова активність	-78,8% ($p_1=0,009$)	+286,1% ($p_2<0,01$)	+102,0% ($p_2<0,01$)	+368,6% ($p_2<0,01$)
Дослідницька активність	-78,0% ($p_1<0,01$)	+131,8% ($p<0,01$)	+186,2% ($p_2<0,01$)	+347,1% ($p_2<0,01$)
Емоційна активність	-70,4% ($p_1=0,02$)	+162,5% ($p_2=0,08$)	+150,0% ($p_2=0,09$)	+288,9% ($p_2<0,01$)
Рівень лактату у тканинах ГМ	+96,4% ($p_1<0,001$)	-25,5% ($p_2<0,001$)	-18,5% ($p_2<0,001$)	-31,8% ($p_2<0,001$)
Рівень пірувату у тканинах ГМ	-54,1% ($p_1<0,001$)	+11,8% ($p_2<0,001$)	+5,9 ($p_2=0,8$)	+29,4% ($p_2=0,2$)
Лактат-піруватне співвідношення	+276,9% ($p_1<0,001$)	-28,6% ($p_2=0,06$)	-20,4% ($p_2=0,1$)	-32,7% ($p_2=0,003$)
Вміст АТФ у тканинах ГМ	-32,3 ($p_1<0,001$)	+21,1% ($p_2=0,03$)	+22,7% ($p_2=0,03$)	+52,3% ($p_2<0,001$)

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності відносно показників інтактних щурів;
2. p_2 – рівень статистичної вірогідності розбіжності відносно показників щурів з АЕМ (контрольна група).

Що важливо, введення всіх досліджуваних препаратів сприяло відновленню дослідницької активності щурів. Це є ще одним важливим маркером когнітивної функції, оскільки зниження дослідницької активності є характерним симптомом у хворих на РС, зокрема внаслідок ураження кортикальних структур, відповідальних за вищі функції головного мозку. У цьому контексті КС-МСК виявився найбільш ефективним препаратом, що також підтверджує його потенціал у відновленні когнітивних функцій, які часто страждають при АЕМ. Це може бути зумовлено не тільки протизапальним ефектом, але й його здатністю покращувати нейропластичність та стимулювати процеси регенерації в ЦНС.

Щодо емоційної активності, то значне поліпшення цього показника спостерігалось у щурів, які отримували КС-МСК. Підвищення рівня емоційної активності може бути ознакою поліпшення загального психоемоційного стану тварин, що, ймовірно, пов'язано з відновленням нейропередачі та регуляцією нейрохімічних процесів, які контролюють емоційну реактивність. Зв'язок між емоційною активністю та функціонуванням нервової системи при АЕМ підкреслює важливість цієї характеристики як маркера ефективності терапії, адже покращення емоційного стану може позитивно вплинути на загальний процес реабілітації пацієнтів.

Важливим аспектом є те, що всі досліджувані біологічні засоби, хоча й мали різну ефективність, все ж виявили здатність поліпшувати неврологічні функції на тлі АЕМ, що відкриває нові можливості для терапії нейродегенеративних захворювань. Особливо це стосується КС-МСК, який продемонстрував високу ефективність не тільки в збереженні м'язової сили, але й у відновленні рухової, дослідницької та емоційної активності, що вказує на його потенціал для комплексного підходу до лікування таких захворювань.

У результаті оцінки метаболічних змін у ГМ щурів з АЕМ на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК були отримані результати, які дозволяють оцінити ефективність цих препаратів у корекції метаболічних порушень, характерних для запальних процесів у мозку.

Було встановлено, що у контрольній групі щурів з АЕМ спостерігалось значне підвищення рівня лактату в тканинах головного мозку, що свідчить про активацію анаеробного метаболізму через порушення аеробних процесів, характерних для нейрозапалення. Підвищення рівня лактату є індикатором недостатності кисню та порушення енергетичного обміну в клітинах головного мозку, що вказує на зниження енергетичної ефективності клітин.

Введення КЕП сприяло зниженню рівня лактату в тканинах головного мозку щурів, що свідчить про нормалізацію метаболічних процесів. Це вказує на можливу активізацію процесів відновлення в мозкових тканинах, зменшення активності анаеробного метаболізму та нормалізацію енергетичного обміну. Подібні результати були відзначені й у групах щурів, які отримували КЕС та КС-МСК, хоча виразність ефекту варіювала (див. табл. 9.2).

Рівень пірувату у щурів з АЕМ був значно знижений, що вказує на порушення нормального функціонування циклу Кребса та зниження здатності клітин до аеробного окиснення глюкози. Підвищення рівня пірувату після введення КЕП та КС-МСК свідчить про відновлення аеробної метаболічної активності, що вказує на покращення енергетичних процесів у мозкових клітинах.

У випадку з малатом, важливим компонентом циклу Кребса, було зафіксовано зростання його рівня у групах щурів, які отримували КЕП та КС-МСК, що свідчить про активізацію аеробного метаболізму та відновлення енергетичних процесів. Лікування КЕС не призвело до значних змін рівня малату, що може свідчити про менший вплив цього препарату на аеробний метаболізм порівняно з іншими засобами.

Оцінка співвідношення лактату до пірувату показала найбільше зниження цього показника в групі, яка отримувала КС-МСК. Це вказує на ефективність цього препарату у відновленні балансу між анаеробними та аеробними метаболічними шляхами, що є важливим для нормалізації енергетичних процесів у головному мозку.

Крім того, виявлено значні порушення балансу аденілових нуклеотидів у клітинах ГМ на тлі АЕМ. Встановлене зниження рівня АТФ на 32,3% і АЕЗ на 4,8%, порівняно з контрольними значеннями, вказує на зниження ефективності енергетичних процесів, що, ймовірно, є наслідком запальних процесів у нервових клітинах. Зниження рівня АТФ особливо критичне, оскільки АТФ є основним джерелом енергії для клітин і має ключове значення для підтримки їхньої життєдіяльності та функціонування.

Лікування КЕП демонструє певне покращення цих показників, зокрема рівень АТФ підвищився на 9,4%, що, хоча й є позитивною динамікою, не досягло статистично значущого рівня. Підвищення АЕЗ на 4,4% не є достатнім для повного відновлення енергетичних процесів (див. табл. 9.2).

Найбільш виражена позитивна динаміка спостерігається при застосуванні КС-МСК, де рівень АТФ збільшився на 52,3% ($p < 0,001$), що є значущим порівняно з іншими групами. Це свідчить про високу ефективність КС-МСК у відновленні енергетичного балансу клітин ГМ при АЕМ. Також слід відзначити, що рівень АЕЗ при застосуванні КС-МСК практично досягнув нормальних значень ($0,902 \pm 0,009$), а це вказує на майже повне відновлення енергетичних функцій клітин.

Таким чином, встановлено великий потенціал БКБЗ для терапії нейродегенеративних захворювань, зокрема РС, де збереження та відновлення різних функціональних параметрів, включаючи м'язову силу, рухову, дослідницьку та емоційну активність, є критично важливим (рис. 9.3).



Рис. 9.3 Складові нейропротекторного ефекту БКБЗ при АЕМ

Метаболічні зміни, пов'язані з порушенням енергетичного балансу у клітинах ГМ, були успішно кориговані під впливом досліджуваних препаратів, особливо КС-МСК, що призвело до значного зниження рівня лактату, відновлення аеробного метаболізму та нормалізації енергетичних процесів. Це вказує на високу ефективність КС-МСК у підтримці енергетичного балансу в умовах нейрозапалення, що є важливим аспектом для лікування нейродегенеративних захворювань.

Результати дослідження підтверджують ефективність використання БКБЗ, зокрема КС-МСК, як перспективних терапевтичних засобів для відновлення функцій нервової системи, поліпшення енергетичних процесів і нейропротекції, що має важливе значення для лікування нейродегенеративних і нейрозапальних захворювань.

Дослідження *тиреотропної активності БКБЗ на моделі АІТ* показали, що введення КЕП, КС та КС-МСК призводить до значного зниження АТ до ТГ, що є важливим показником розвитку вказаного АІЗ. Підвищення рівня АТ до ТГ у групі без лікування є маркером прогресування аутоімунної реакції на тлі тиреоїдиту. Проте, після застосування КЕП, КЕС та КС-МСК спостерігається помітне зниження рівня цих антитіл, що вказує на здатність препаратів уповільнювати або навіть призупиняти розвиток аутоімунної агресії.

Зниження рівня АТ до ТГ є значущим маркером корекції аутоімунного процесу, оскільки ці антитіла здатні спричиняти руйнування тиреоїдних клітин, що призводить до зниження функції ЩЗ. Таким чином, ефективність КЕП, КЕС та КС-МСК у зниженні рівня антитіл може свідчити про те, що ці препарати мають властивість знижувати інтенсивність аутоімунного процесу та захищати ЩЗ від подальшого ушкодження. Це також може свідчити про здатність цих засобів до модуляції імунної відповіді, нормалізуючи її у бік зниження патологічної активності.

Найбільш ефективним у зниженні рівня антитіл виявився КС-МСК, що свідчить про його здатність не лише коригувати гормональний фон, а й

знижувати аутоімунну активність. Зниження рівня АТ до ТГ у цій групі на 13,9% вказує на потенціал препарату для контролю аутоімунних процесів ЩЗ.

Зміни в рівнях тиреоїдних гормонів, зокрема загального та вільного Т3 і Т4, підтверджують, що АІТ є порушенням не лише аутоімунного характеру, а й метаболічним розладом в організмі, що стосується синтезу та метаболізму тиреоїдних гормонів.

Підвищення рівня загального Т3 та Т4 у контрольній групі є результатом компенсаторної реакції організму на порушення функції ЩЗ. В умовах АІТ залоза намагається компенсувати дефіцит гормонів через підвищене вироблення, що призводить до зміни їх концентрацій у сироватці крові.

Застосування L-тироксину, незважаючи на зниження рівня антитіл, не призвело до нормалізації всіх показників, а лише до часткового коригування гормонального фону. Проте, значне підвищення рівня Т3 та Т4 у групі щурів, які отримували L-тироксин, підтверджує ефективність синтетичного аналога гормону у відновленні функцій ЩЗ, хоча це було супроводжено значним зростанням АТ до ТГ.

Найвиразніше зниження рівня Т3 і Т4 спостерігалось на тлі введення КС-МСК, що свідчить про цю здатність не лише регулювати гормональний рівень, а й знижувати компенсаторну гіперпродукцію тиреоїдних гормонів, характерну для АІТ. Це може бути наслідком ефективної імуномодуляції, яка стабілізує функцію ЩЗ, запобігаючи її надмірному стимулюванню.

Зміни у співвідношенні загального і вільного Т3 та Т4 у сироватці крові також є важливим індикатором ефективності лікування. Зниження співвідношення в контрольній групі вказує на порушення функції ЩЗ, де вільні гормони стають менш доступними для тканин. Це є наслідком порушення процесів перетворення Т4 в активну форму Т3, що характерне для АІТ. Застосування L-тироксину нормалізувало співвідношення загального до вільного Т4, що підтверджує ефективність препарату у відновленні функції ЩЗ. Однак для групи, що отримувала КЕП, КЕС і КС-МСК, спостерігалися менш виразні зміни цього співвідношення. КС-МСК продемонстрував

найкращі результати з підвищення співвідношення, що вказує на більш ефективне коригування порушеного метаболізму тиреоїдних гормонів у порівнянні з іншими препаратами.

Отримані результати підкреслюють, що біологічні препарати, зокрема КС-МСК, мають значний потенціал у корекції як гормональних, так і імунних порушень, які виникають при АІТ. У майбутньому ці препарати можуть стати основою для нових терапевтичних підходів до лікування АІЗ ШЗ, дозволяючи не тільки відновлювати гормональний баланс, а й коригувати аутоімунні процеси, що лежать в основі розвитку захворювання.

Аналіз рівнів імуноглобулінів показав, що усі групи, які отримували БКБЗ, продемонстрували зниження рівнів IgA, IgM та IgG порівняно з контрольною групою, де рівні імуноглобулінів були значно вищими. Найбільше зниження спостерігалось в групах, де використовували КЕП та КС-МСК, що вказує на більш виражене пригнічення синтезу імуноглобулінів у цих групах. У той час як у групі з КЕС зміни в рівнях імуноглобулінів були менш вираженими (табл. 9.3).

Таблиця 9.3

Баланс імуноглобулінів на тлі введення БКБЗ при АІТ

Умови дослідю → Показник ↓	АІТ	АІТ+КЕП	АІТ+КЕС	АІТ+ КС-МСК
Рівень IgA	+31,4% ($p_1 < 0,001$)	-15,5% ($p_2 = 0,001$)	-7,7% ($p_2 = 0,3$)	-19,2% ($p_2 = 0,001$)
Рівень IgM	+86,7% ($p_1 < 0,001$)	-28,6% ($p_2 = 0,004$)	-25,0% ($p_2 = 0,01$)	-39,3% ($p_2 < 0,001$)
Рівень IgG	+62,7% ($p_1 < 0,001$)	-31,1% ($p_2 < 0,001$)	-42,6% ($p_2 < 0,001$)	-44,3% ($p_2 < 0,001$)

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності відносно показників інтактних щурів;
2. p_2 – рівень статистичної вірогідності розбіжності відносно показників щурів з АІТ (контрольна група).

Ці результати свідчать про те, що БКБЗ мають здатність знижувати рівні імуноглобулінів у щурів з АІТ, хоча їх ефективність варіює. Проте, деякі з БКБЗ, зокрема з КЕП і КС-МСК, мають більш значущі зміни в порівнянні з іншими. Такий ефект може бути пов'язаний із механізмами, через які ці засоби впливають на імунну систему в умовах аутоімунного захворювання.

Таким чином встановлено, що КЕП, КЕС та КС-МСК значно знижують концентрацію АТ до ТГ, зменшують компенсаторну гіперпродукцію Т3 і Т4 та нормалізують рівень IgA, IgM і IgG, що забезпечує їх терапевтичний потенціал у лікуванні АІТ, коригуючи як гормональні, так і імунні порушення, що виникають при цьому захворюванні (рис. 9.4).



Рис. 9.4 Тиреотропні ефекти БКБЗ при АІТ

Аналіз результатів морфофункціональної оцінки кардіопротективної активності БКБЗ *при аутоімунному ураженні серця (міокардит)* дозволив зрозуміти механізми їх дії та вплив на серцеву функцію в умовах патології. Препарати КЕП, КЕС та КС-МСК проявляють різні ефекти на серцево-судинну систему, що вказує на їх здатність не лише зменшувати прояви міокардиту, але й стимулювати відновлення функцій серця.

Перш за все, варто звернути увагу на зміну КДД ЛШ (**табл. 9.4**). У тварин з АЕМ спостерігався ріст цього показника (+6,4%), що свідчить про розширення ЛШ та є типовим для серцевої недостатності, пов'язаної з порушенням його скорочувальної функції.

Узагальнена кількісна морфофункціональна оцінка кардіопротективної активності БКБЗ при АІМ за даними ультразвукової ехокардіографії

Умови досліджу → Показник ↓	АІМ	АІМ +КЕП	АІМ +КЕС	АІМ+ КС-МСК
Кінцево-діастолічний діаметр (КДД) лівого шлуночка (ЛШ), мм	+6,4% ($p_1=0,2$)	+4,2% ($p_2=0,4$)	-1,2% ($p_2=0,8$)	-6,5% ($p_2=0,2$)
Кінцево-систолічний діаметр ЛШ (КСД), мм	+47,0% ($p_1<0,001$)	-27,6% ($p_2<0,001$)	-2,7% ($p_2<0,001$)	-30,3% ($p_2<0,001$)
Товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД), мм	+30,0% ($p_2<0,001$)	-18,7% ($p_2=0,001$)	-12,1% ($p_2=0,006$)	-20,9% ($p_2=0,01$)
Товщина міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС), мм	+7,4% ($p_1=0,3$)	-3,6% ($p_2=0,5$)	-2,4% ($p_2=0,7$)	-7,8% ($p_2=0,2$)
Товщина задньої стінки ЛШ в діастолу (ТЗСД), мм	-6,8% ($p_1=0,1$)	+4,1% ($p_2=0,5$)	+1,4% ($p_2=0,8$)	+19,4% ($p_2=0,002$)
Товщина задньої стінки ЛШ в систолу (ТЗСС), мм	+13,3% ($p_1=0,001$)	-5,9% ($p_2=0,001$)	-5,9% ($p_2=0,06$)	-11,8% ($p_2=0,001$)
Кінцево-діастолічний об'єм (КДО), мл	+23,5% ($p_1>0,05$)	+8,3% ($p_2>0,05$)	-7,0% ($p_2>0,05$)	-17,7% ($p_2=0,1$)
Кінцево-систолічний об'єм (КСО), мл	+210,3% ($p_1<0,001$)	-62,0% ($p_2<0,001$)	-31,7% ($p_2=0,016$)	-65,9% ($p_2<0,001$)
Ударний об'єм (УО), мл	-40,8% ($p_1=0,013$)	+108,6% ($p_2=0,001$)	+45,8% ($p_2=0,07$)	+57,3% ($p_2=0,009$)
Хвилинний об'єм (ХО), мл/хв	-32,4% ($p_1=0,024$)	+97,5% ($p_2=0,004$)	+50,5% ($p_2=0,05$)	+44,6% ($p_2=0,009$)
% систолічного потовщення міжшлуночкової перегородки (СПМШП)	-42,2% ($p_1=0,001$)	+59,9% ($p_2=0,002$)	+23,3% ($p_2=0,013$)	+47,4% ($p_2=0,03$)
% систолічного потовщення задньої стінки ЛШ (СПЗСШ)	+65,6% ($p_1=0,006$)	-23,5% ($p_2=0,042$)	-19,5% ($p_2=0,02$)	-61,0% ($p_2=0,002$)
Фракція вкорочення (ФВк)	-56,8% ($p_1<0,001$)	+144,2% ($p_2<0,001$)	+46,8% ($p_2=0,02$)	+39,9% ($p_2<0,001$)
Фракція викиду (ФВ)	-50,8% ($p_1<0,001$)	+115,1% ($p_2<0,001$)	+62,1% ($p_2=0,01$)	+103,4% ($p_2<0,001$)

Примітки.

1. p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності відносно показників інтактних щурів;
2. p_2 – рівень статистичної вірогідності розбіжності відносно показників щурів з АІМ (контрольна група).

Найбільший ефект спостерігається при застосуванні КС-МСК, де КДД зменшується на 6,5%. Це може вказувати на нормалізацію або часткове зменшення дилатації ЛШ, характерної для АІМ, що є важливим аспектом кардіопротекції.

Зміни КСД мають ще більш виражену картину. У тварин з АЕМ, що не отримували лікування, КСД збільшився на 47,0%, що свідчить про порушення серцевої контрактильності, зокрема про дилатацію ЛШ та погіршення його здатності до скорочення. Введення КЕП зменшило КСД на 27,6%, а КС-МСК – на 30,3% (див. табл. 9.4). Це свідчить про відновлення скорочувальної здатності серця, що є критичним для нормалізації функції серця при АІМ.

Інші морфометричні параметри, такі як ТМПД і ТМПС, також показують важливі зміни після лікування. У тварин з АІМ спостерігалось значне потовщення перегородки, що є результатом компенсаторних змін при міокардиті, проте терапія БКБЗ призвела до зменшення цього потовщення. Найбільше зниження ТМПД спостерігалось при лікуванні КС-МСК (на 20,9%), що вказує на його здатність зменшувати гіпертрофічні зміни, що часто супроводжують запальні процеси в серці.

Зміни товщини задньої стінки лівого шлуночка (ТЗСД і ТЗСС) також мають велике значення. У контрольній групі ТЗСД зменшився на 6,8%, що може бути ознакою зниження скорочувальної здатності серця внаслідок міокардиту. Встановлено, що ТЗСД значно збільшилася при застосуванні КС-МСК (на 19,4%), що може свідчити про покращення стану міокарда та здатність до скорочення стінки ЛШ, важливої для нормальної серцевої функції.

Що стосується функціональних параметрів, таких як КДО, КСО, УО та ХО, то терапія БКБЗ значно покращує їх показники порівняно з контрольною групою. Зокрема, КСО зменшується на 62,0% при використанні КЕП та на 65,9% при КС-МСК, що свідчить про покращення евакуації крові з ЛШ. Збільшення УО на 108,6% при введенні КЕП та на 57,3% при застосуванні КС-

МСК (див. табл. 9.4) підтверджує покращення систолічної функції серця та здатності до ефективного викиду крові.

Найбільші зміни спостерігаються в показниках ФВ і ФВк. При застосуванні КЕП, КЕС та КС-МСК відзначалося суттєве покращення цих показників. ФВ у контрольній групі зменшилася на 50,8%, що вказує на серйозне погіршення серцевої функції, але після лікування препаратами БКБЗ фракція викиду зросла на 115,1% (КЕП), на 62,1% (КЕС) та на 103,4% (КС-МСК), що свідчить про значне покращення ефективності серцевого викиду. Аналогічні зміни спостерігаються і у ФВк, що підтверджує відновлення здатності міокарда до ефективного скорочення.

Таким чином, результати аналізу свідчать, що препарати КЕП, КЕС та КС-МСК сприяють зменшенню дилатації ЛШ, покращують його скорочувальну функцію, нормалізують товщину стінок серця та підвищують ефективність серцевого викиду. КС-МСК демонструє найвираженішу терапевтичну активність, зокрема у зменшенні діаметрів ЛШ та нормалізації товщини стінок. Це дозволяє припустити, що введення КС-МСК проявляє виражену кардіопротективну активність.

Оцінка впливу БКБЗ на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця щурів з АІМ свідчить про гіперактивацію процесів окислення. Одночасно знижувалась активність каталази, що вказує на виснаження антиоксидантних механізмів.

Введення БКБЗ продемонструвало значне зниження рівня ТБК-РП, що вказує на їх антиоксидантну активність. Найбільшу ефективність у зменшенні окислювального стресу показав КС-МСК (зниження на 32,7%), порівняно з іншими препаратами (КЕС та КЕП), а також референс-препаратом кордароном.

Активність каталази після введення препаратів підвищувалась з найбільшим ефектом на фоні КС-МСК (зростання на 40%). Інтегральна оцінка антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу показала, що БКБЗ мають потенціал для підтримки антиоксидантного балансу в умовах АІМ, з найбільш

вираженими антиоксидантними властивостями у КС-МСК. Отримані результати доводять ефективність БКБЗ у корекції окислювально-відновного дисбалансу при АІМ, що може мати потенціал для клінічного застосування в лікуванні серцево-судинних захворювань.

Таким чином встановлено, що КС-МСК, КЕС та КЕП мають кардіопротективну активність при АІМ, зменшуючи дилатацію ЛШ, нормалізуючи товщину стінок, підвищуючи серцевий викид та відновлюючи антиоксидантний захист (рис. 9.5).



Рис. 9.5 Патогенетичні ланки кардіопротективної активності БКБЗ при АІМ

Результати експериментального дослідження ефективності КЕП, КЕС та КС-МСК *на моделі аутоімунного ураження нирок* при АІН свідчать про значний нефропротекторний потенціал цих БКБЗ, який виявляється у поліпшенні функціонального стану нирок, зниженні рівня креатиніну та сечовини в крові, нормалізації добового діурезу та протеїнурії.

Зокрема, застосування КЕП призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження рівня креатиніну в крові на 16,8% та сечовини на 45,8%, що свідчить про покращення клубочкової фільтрації та функції нирок загалом. Відзначено також зростання добового діурезу на 114,8% ($p < 0,001$), що вказує на виражений діуретичний ефект, характерний для цього препарату на тлі АІН.

Зростання ШКФ на 50,5% в умовах введення КЕП свідчить про відновлення основних функцій нирок, зокрема виведення кінцевих продуктів обміну, таких як креатинін і сечовина, що підтверджує його нефропротекторну активність.

КЕС продемонстрував виражену нефропротекторну активність, але без вираженого діуретичного ефекту. Статистично вірогідне зниження концентрації креатиніну в крові на 22,0% ($p<0,01$) та сечовини на 45,8% ($p<0,001$) є показниками поліпшення клубочкової фільтрації та нормалізації азотемії. Зростання ШКФ на 64,3% ($p<0,001$) вказує на ефективність препарату у відновленні ниркової функції. Водночас відсутність діуретичного ефекту у КЕС, на відміну від КЕП, дозволяє припустити, що його основний механізм дії полягає в покращенні мембранних функцій нефронів, зокрема в зниженні запальних процесів у тканинах нирок.

Найбільш виражену нефропротекторну активність виявлено при застосуванні КС-МСК, що проявилось в статистично вірогідному ($p<0,001$) зниженні рівня креатиніну на 38,2% та сечовини на 60,8%. Збільшення ШКФ на 155,3% ($p<0,001$) свідчить про значне поліпшення функціонального стану нирок у порівнянні з контрольною групою, що на 51,2% перевищує ефекти референс-препарату канефрону. Крім того, введення КС-МСК сприяло зниженню протеїнурії на 65,8% ($p<0,001$), що є важливим показником ефективності препарату в контексті поліпшення бар'єрної функції ниркових клубочків і подоцитів. Це також вказує на потужні регенераційні властивості КС-МСК, які сприяють відновленню структури нефронів після аутоімунного пошкодження.

Щодо показників екскреції креатиніну, то на фоні розвитку АІН спостерігалось значне підвищення рівня креатиніну в крові на 111,3% ($p<0,001$) при одночасному зростанні його екскреції в сечі лише на 54,4% ($p<0,001$). Враховуючи це, введення КС-МСК, КЕП та КЕС дозволяє відновити кліренс креатиніну, що підтверджується статистично вірогідним ($p<0,001$) зростанням цього показника на 123,4% при введенні КС-МСК та на 105,8% при введенні канефрону.

Щодо зміни рівня протеїнурії, введення КС-МСК забезпечило найбільше зниження екскреції білка в сечі (на 65,8%), що перевищує ефективність канефрону на 29,9% ($p=0,04$). Крім того, на тлі введення всіх досліджуваних БКБЗ спостерігалось зростання рівня загального білка в крові, що свідчить про відновлення білкового обміну та покращення загального стану тварин. Так, на тлі КС-МСК рівень загального білка зріс на 132,4%, на тлі КЕС – на 129,6%, а на тлі КЕП – на 121,6%.

Отримані результати підтверджують високу ефективність досліджуваних БКБЗ у лікуванні АІН, при цьому КС-МСК виявився найефективнішим препаратом, який значно перевищує ефективність канефрону за основними показниками функціональної активності нирок, зокрема ШКФ, рівнем сечовини, креатиніну та протеїнурії. Ці зміни, в свою чергу, вказують на здатність КС-МСК не тільки знижувати запальні процеси, але й сприяти відновленню структури та функції нирок, зокрема через механізми регенерації та покращення мембранних властивостей нефронів.

Оцінка рівня ейкозаноїдів у тканинах нирок щурів з АІН під впливом КЕП, КЕС та КС-МСК свідчать про суттєві зміни у метаболізмі арахідонової кислоти, що безпосередньо відображають ефективність цих засобів у регулюванні запального процесу в нирках.

У щурів з АІН спостерігалось значне підвищення рівнів ПГЕ2, ТхВ2 та ЛТВ4 у тканинах нирок. Підвищення концентрації ПГЕ2 на тлі запального процесу можна пояснити активацією ЦОГ, яка відповідає за перетворення арахідонової кислоти в ПГ. ПГЕ2, як відомо, викликає вазодилатацію, підвищує судинну проникність та сприяє розвитку набряків, що є типовими проявами запалення в нирках при АІН. Підвищення рівня ТхВ2, з іншого боку, може бути зумовлене активацією тромбоцитарної активності та утворенням тромбів, що призводить до порушення мікроциркуляції та розвитку мікротромбозів, характерних для гломерулонефриту. Різке збільшення рівня ЛТВ4, потужного хемотаксичного агента, вказує на інтенсивну інфільтрацію лейкоцитів у місце запалення, що лише посилює пошкодження тканин нирок.

У відповідь на ці зміни застосування референс-препарату канефрону викликало зниження рівня ПГЕ2 на 23,6%, що свідчить про певну протизапальну активність цього препарату. Однак зниження інших ейкозаноїдів, таких як ТхВ2 та ЛТВ4, було менш виразним, що вказує на обмежену ефективність канефрону при високому рівні запальних процесів у нирках.

Більш виразну протизапальну активність продемонстрував КС-МСК. Введення КС-МСК призвело до значного зниження рівня всіх досліджуваних ейкозаноїдів: ЛТВ4 – на 61,9%, ТхВ2 – на 44,4%, ПГЕ2 – на 43,5% (рис. 9.6).

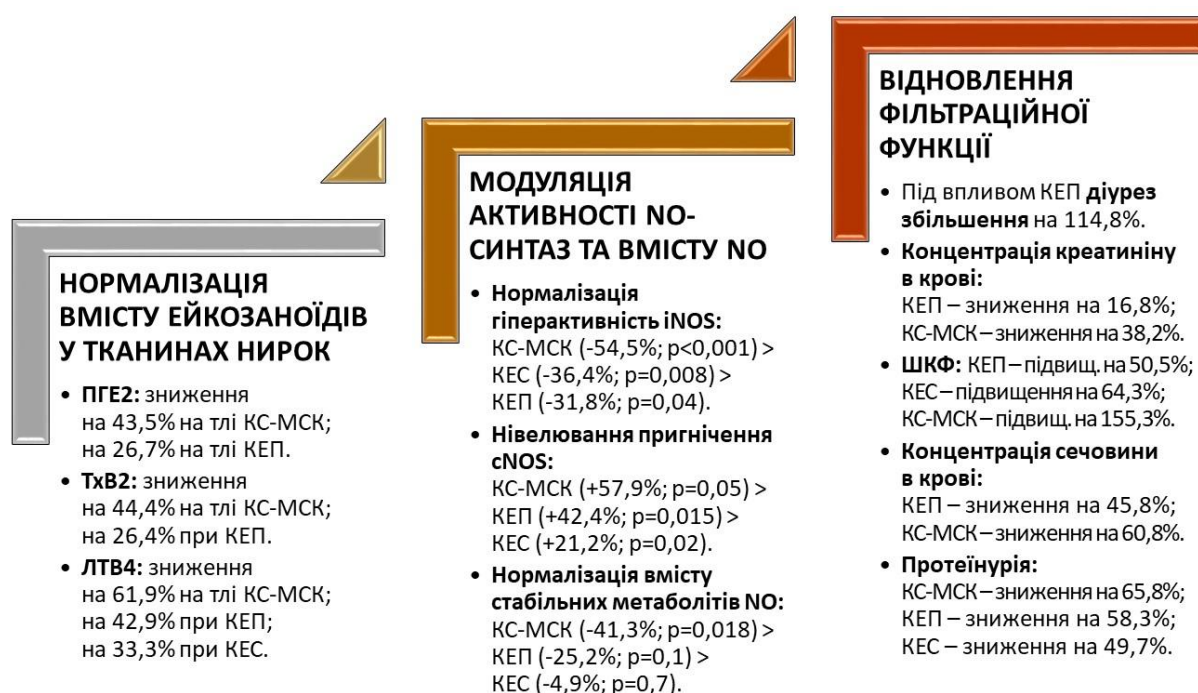


Рис. 9.6 Механізми нефропротективної активності БКБЗ при АІМ

Такі результати свідчать про значну ефективність КС-МСК у гальмуванні метаболізму арахідонової кислоти, що може бути пов'язано з інгібуванням фосфоліпази та ЦОГ, а також з блокуванням активації комплементу, що є важливим механізмом розвитку запалення при АІН. Даний ефект, ймовірно, пов'язаний з протизапальною та антиоксидантною активністю КС-МСК, що підтверджується численними літературними даними

щодо здатності МСК знижувати оксидативний стрес і запалення в умовах гломерулонефриту [659].

Таким чином, отримані результати свідчать про високу ефективність КС-МСК у зменшенні запального процесу при АІН, що може бути зумовлено здатністю цього екстракту впливати на ключові етапи метаболізму арахідонової кислоти, зокрема шляхом інгібування утворення ейкозаноїдів, які беруть участь у розвитку запалення. Враховуючи отримані дані, можна зробити висновок про перспективність використання КС-МСК як потенційного терапевтичного засобу для лікування АІН.

Дослідження стану NO-ергічного гомеостазу при змодельованому нефриті Хеймана на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК показало важливі зміни у функціонуванні ферментів, що беруть участь у синтезі NO в тканинах нирок. Виявлене підвищення активності індукцйбельної iNOS на 83,3% на тлі розвитку АІН вказує на активізацію запальних процесів в організмі. Важливо відзначити, що це зростання активності iNOS супроводжувалося значним підвищенням рівня NO в сироватці крові, що вказує на інтенсивну продукцію NO поза клітинами нирок. Зростання рівня NO в сироватці на 68,2% є свідченням порушення балансу в системі регуляції NO, що супроводжується змінами у мікроциркуляції нирок та погіршенням їх функції.

Підвищений рівень NO, отриманого через iNOS, може призводити до інгібування діяльності конститутивних ізоформ NOS (cNOS), що є важливим аспектом порушення гомеостазу в ниркових клітинах. Відомо, що iNOS здатна інгібувати активність eNOS та nNOS, що, в свою чергу, впливає на мікросудинну функцію та загальний стан нирок, особливо при запальних захворюваннях, таких як гломерулонефрит.

Застосування як референс-препарату канефрону, так і БКБЗ, не призвело до статистично значущих змін в активності сумарної NOS, однак зміни у співвідношенні ізоформ ферменту є значущими. Зокрема, введення канефрону спричинило помірне зниження активності iNOS на 18,2%, що свідчить про

певну протизапальну активність цього препарату, але не досягало рівня значущих змін порівняно з результатами при введенні БКБЗ.

Суттєво виражене пригнічення активності iNOS спостерігалось при введенні КС-МСК, де зниження активності iNOS становило 54,5%. Це вказує на виразну протизапальну дію КС-МСК, яка, ймовірно, реалізується через зменшення експресії імунних медіаторів, таких як прозапальні цитокіни, що також підтверджується раніше отриманими даними щодо ефективності КС-МСК у зниженні запалення. Це є значущим для поліпшення функціонального стану нирок, оскільки зменшення активності iNOS може зменшити надмірне вироблення NO, що шкодить нормальній мікроциркуляції в органі.

Введення БКБЗ також сприяло відновленню активності cNOS, що має важливе значення для підтримки нормальної судинної функції та мікроциркуляції в нирках. Найбільше підвищення активності cNOS спостерігалось при введенні КС-МСК (57,9%), що ще раз підкреслює його значну нефропротекторну активність. Відновлення активності cNOS є важливим механізмом, оскільки ці ізоформи сприяють нормалізації судинного тону та покращенню кровообігу в тканинах нирок.

Найбільше зниження рівня метаболітів NO у крові було зафіксовано у тварин, які отримували КС-МСК ($p=0,018$), що відображає здатність цього препарату значно зменшувати надмірну продукцію NO та запобігати його шкідливому впливу на функцію нирок. Це зниження, ймовірно, пов'язано з інгібуванням надмірної активності iNOS і відновленням нормальної функції cNOS, що є критичним для підтримання гомеостазу в тканинах нирок.

Отже, результати дослідження свідчать, що КС-МСК має найбільший ефект щодо регуляції NO-ергічного гомеостазу при АІН, зокрема через пригнічення надмірної активності iNOS і відновлення функції cNOS. Це, ймовірно, пояснюється його здатністю впливати на імунну відповідь і знижувати запалення, що сприяє покращенню мікроциркуляції та загального стану нирок.

Таким чином, проведені дослідження демонструють високу ефективність КС-МСК, КЕП та КЕС у зменшенні запалення та поліпшенні функціонального стану нирок при аутоімунному ураженні, спричиненому АІН. Зокрема, КС-МСК виявився найефективнішим препаратом, значно перевищивши канефрон за основними показниками, такими як рівень креатиніну, сечовини, ШКФ та протеїнурії. Введення КС-МСК призвело до виразного зниження рівня ейкозаноїдів, таких як ПГЕ2, ТхВ2 та ЛТВ4, а також значного покращення гомеостазу NO-ергічного балансу (див. рис. 9.6), що підтверджує його потужну протизапальну та нефропротекторну активність. Ці результати вказують на перспективність використання КС-МСК як потенційного терапевтичного засобу для лікування АІН, зокрема завдяки його здатності відновлювати функцію нирок та покращувати мікроциркуляцію.

Оцінка ефективності БКБЗ *на моделі аутоімунного ураження печінки при АІГ* продемонструвала виражене зниження загального біліруіну, що свідчить про покращення процесів виведення токсичних продуктів з організму та відновлення функцій печінки. Особливо ефективним у цьому плані виявився КС-МСК, який, ймовірно, сприяв активації регенераційних процесів у печінці, що є ключовим механізмом для нормалізації її функціонування при патології.

Що стосується амінотрансфераз, які є важливими маркерами пошкодження гепатоцитів, спостерігалось їх значне зниження після застосування всіх видів БКБЗ. Цей результат свідчить про зменшення активності запальних процесів і цитолізу в печінці. Найбільш виражене зниження рівня АсАТ спостерігалось після використання КС-МСК, що може вказувати на високий потенціал цього БКБЗ у зменшенні клітинних пошкоджень і сприянні стабільності клітинних мембран. Крім того, це може свідчити про зниження активності запалення та поліпшення клітинної структури печінки.

Важливим аспектом при АІГ є нормалізація білковосинтетичної функції печінки, оскільки зниження рівня білка, зокрема альбуміну, може призвести

до розвитку тяжких порушень, таких як набряки та порушення осмотичного тиску. У нашому дослідженні було відзначено, що після застосування БКБЗ рівень білка в сироватці крові значно підвищився, що вказує на покращення білковосинтетичної активності печінки. Найбільш виражене підвищення рівня альбуміну спостерігалось після застосування КС-МСК, що свідчить про його важливу роль у стимулюванні синтетичної функції печінки та відновленні її основних біохімічних процесів.

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що застосування БКБЗ – КЕП, КЕС та КС-МСК – має значний терапевтичний ефект при АІГ. Зниження рівня білірубину, амінотрансфераз та підвищення рівня білка вказують на те, що БКБЗ ефективно стимулюють відновлення функціонального стану печінки, знижують інтенсивність запальних та дистрофічних процесів, а також стимулюють процеси регенерації тканин. Особливо виражений ефект відзначено при застосуванні КС-МСК, що може свідчити про його більшу ефективність у порівнянні з іншими БКБЗ.

Оцінка стану ПОЛ-АОС у печінці щурів на тлі АІГ показало значні зміни в балансі окислювальних процесів. КЕП, КЕС, КС-МСК демонстрували різну ефективність у нівелюванні ПОЛ. Найбільш виразне зниження рівня ТБК-РП було зафіксовано після введення КС-МСК, зниження на 58,7% порівняно з контрольною групою.

Усі досліджувані БКБЗ мали менш виражений ефект відновлення активності каталази та СОД у порівнянні з силібором. Водночас, КС-МСК продемонстрував найкращі результати щодо відновлення активності СОД (+66,7% відносно контролю), в той час як КЕП і КЕС були менш ефективні. Порівняльний аналіз показав, що КС-МСК також найкраще відновлював баланс у системі ПОЛ-АОС, забезпечуючи найбільший приріст АПІ (+201,4%).

Отже, незважаючи на загальну тенденцію до ослаблення антиоксидантного захисту при АІГ, використання БКБЗ, особливо КС-МСК,

може значно покращити антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у печінці, що вказує на перспективність їх застосування в лікуванні АІГ.

Аналіз енергетичного обміну у гепатоцитах показав, що при розвитку АІГ спостерігається значне порушення енергетичних процесів. Рівень АТФ знизився на 55,1%, АДФ – на 57,1%, а рівень АМФ зріс у 2,6 рази, що свідчить про підвищену активацію катаболічних процесів і накопичення енергетичних відходів. Виявлені зміни у рівнях аденілових нуклеотидів призвели до зниження АЕЗ на 42,5%. Серед досліджених БКБЗ найбільшу ефективність виявив КЕС, який підвищив рівень АТФ на 72,0% та збільшив АЕЗ на 37,3%, що співставно з ефектом силібору. Найбільший приріст АТФ та відновлення енергетичного балансу спостерігались після введення КЕП, де рівень АТФ зріс на 89,3%. Крім того, введення КС-МСК призвело до найбільш виразного покращення енергетичного обміну, підвищуючи рівень АТФ на 102,7% і відновлюючи АЕЗ на 65,8%. Загалом, введення БКБЗ, зокрема КС-МСК та КЕП, демонструє значний потенціал для відновлення енергетичного балансу в гепатоцитах, що може бути корисним при лікуванні АІГ.

Дослідження клітинного циклу гепатоцитів показало, що при АІГ відбувається зменшення частки клітин у фазі G0/G1 на 12,7% з одночасним збільшенням частки клітин у фазах S та G2/M. Це свідчить про активацію клітинного поділу внаслідок пошкодження клітин і потреби в їх відновленні. Однак, збільшення кількості клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1) вказує на високий рівень клітинної загибелі при АІГ. Введення КС-МСК сприяло найбільшому збільшенню кількості клітин у фазі S, що вказує на активізацію регенеративного потенціалу печінки. Водночас, КЕП та КЕС мали слабший вплив на підготовку клітин до поділу, що відображалось у меншому збільшенні частки клітин у S фазі.

Таким чином, результати дослідження демонструють значний терапевтичний ефект застосування БКБЗ при аутоімунному ураженні печінки (рис. 9.7).



Рис. 9.7 Провідні механізми гепатопротективної активності БКБЗ при АІГ

Досліджені БКБЗ сприяли покращенню біохімічних показників функції печінки, таких як зниження рівня білірубину, амінотрансфераз та підвищення рівня білка, що свідчить про нормалізацію функцій печінки і зменшення запальних процесів. Особливо виражений ефект був досягнутий при застосуванні КС-МСК, який не лише стимулював регенерацію клітин печінки, але й покращив баланс ПОЛ-АОС та енергетичний обмін у гепатоцитах. Ці результати вказують на високий потенціал КС-МСК як терапевтичного засобу для лікування АІГ, особливо з огляду на його ефективність у покращенні клітинного циклу та стимулюванні регенеративних процесів у печінці.

Узагальнюючи результати оцінки ефективності БКБЗ на шести моделях АІЗ, можна виокремити такі ключові механізми їх терапевтичної дії – на моделі артриту Пірсона, що характеризується запаленням суглобів і порушенням імунної регуляції, КС-МСК продемонстрував найбільшу ефективність, зокрема у зниженні рівня запальних маркерів і покращенні стану суглобів. Він активував процеси регенерації тканин, поліпшував баланс системи ПОЛ-АОС і знижував рівень оксидативного стресу. КЕП також показав позитивний ефект у зменшенні запальних процесів, однак його

ефективність була менш виражена порівняно з КС-МСК. КЕС, в свою чергу, виявився менш ефективним у зниженні вираженості запалення.

У моделі експериментального АЕМ, де основною метою є зменшення імунного запалення в нервовій системі, КС-МСК виявився найбільш ефективним, зменшуючи симптоми запалення та покращуючи функцію ЦНС. Він також сприяв відновленню тканин мозку та знижував рівень оксидативного стресу. КЕП продемонстрував добрі результати, зокрема у зниженні рівня цитокінів, однак його вплив на імунні процеси був не таким вираженим, як у КС-МСК. КЕС виявився менш ефективним щодо нейропротекції та нормалізації імунної відповіді.

При експериментальному АІТ, який характеризується порушеннями функцій ЩЗ, всі три БКБЗ продемонстрували терапевтичну активність. КС-МСК показав найкращі результати у нормалізації рівня тиреоїдних гормонів та зменшенні аутоімунних реакцій. Він також сприяв відновленню структури залози та знижував рівень АТ до ТГ. КЕП був ефективним у нормалізації гормональних рівнів, але його вплив на аутоімунні процеси був не таким сильним. КЕС виявився менш ефективним у порівнянні з іншими БКБЗ, зокрема в регенерації тканин ЩЗ.

У моделі експериментального АІМ КС-МСК був найбільш ефективним у зменшенні запалення та відновленні функції серця. Він сприяв зниженню рівня серцевих маркерів запалення та покращенню кровопостачання серцевих тканин. КЕП також показав добрі результати, зокрема у зниженні запалення, однак його здатність до відновлення міокардіоцитів була менш виражена. КЕС виявився менш ефективним, хоча і демонстрував позитивний вплив на зниження запалення в серці.

При експериментальному нефриті Хеймана, що характеризується ураженням нирок, КС-МСК продемонстрував найкращі результати, зменшуючи запалення та нормалізуючи біохімічні показники функцій нирок, такі як рівень креатиніну та сечовини, а також покращував мікроциркуляцію. КЕП також показав добрі результати у відновленні функцій нирок, але його

ефективність була дещо нижчою, ніж у КС-МСК. КЕС був менш ефективним у порівнянні з іншими БКБЗ, показавши лише помірні результати у зменшенні запалення та відновленні функцій нирок.

При експериментальному АІГ, який є захворюванням, що характеризується ушкодженням печінки, всі три БКБЗ показали певну ефективність, але КС-МСК був найбільш потужним серед них. Він значно покращив рівень печінкових ферментів, знизив рівень білірубину та амінотрансфераз, стимулюючи регенерацію клітин печінки і нормалізацію функціональних показників. КЕП також показав позитивний ефект у нормалізації біохімічних показників печінки, зокрема в зниженні рівня білірубину, але ефект був менш виражений. КЕС також мав певну ефективність, але він поступався КЕП і КС-МСК у відновленні функцій печінки.

Порівнюючи ефективність БКБЗ, можна зробити висновок, що КС-МСК виявився найбільш ефективним на більшості моделей, включаючи АІГ, АІМ, АІН та РА. Він продемонстрував найбільший потенціал у стимулюванні регенерації клітин, покращенні функцій органів, зниженні запалення та нормалізації біохімічних показників. КЕП також показав значні результати в терапії, зокрема у нормалізації функцій органів і зменшенні запальних процесів, але його ефективність була менш виражена порівняно з КС-МСК. КЕС, хоч і продемонстрував певну терапевтичну активність, виявився менш ефективним у порівнянні з іншими двома БКБЗ, особливо у таких аспектах, як регенерація клітин та відновлення функцій органів.

Таким чином, встановлено, що КЕП, КЕС та КС-МСК демонструють полівекторні терапевтичні ефекти при АІЗ, таких як аутоімунний артрит, енцефаломієліт, тиреоїдит, міокардит, нефрит і гепатит. Однак, попри різницю в ефективності між окремими БКБЗ на різних моделях, їх лікувальний вплив можна пояснити низкою спільних патогенетичних механізмів, які включають нормалізацію імунної регуляції, зменшення окислювального стресу, покращення антиоксидантного захисту та стимулювання регенерації клітин, а також відновлення енергетичних процесів у клітинах.

Одним з основних патогенетичних механізмів дії досліджуваних БКБЗ є зниження рівня окислювального стресу та поліпшення антиоксидантного балансу в організмі. Окислювальний стрес відіграє важливу роль у розвитку запальних процесів, характерних для АІЗ, і часто призводить до пошкодження тканин, порушення клітинної функції та активації імунної відповіді. Дослідження показали, що всі три БКБЗ значно знижують рівень продукції активних форм кисню та сприяють активації АОС. Особливо виражений ефект спостерігався при використанні КС-МСК, який не лише знижував рівень окислювальних ушкоджень, але й покращував функцію ферментів антиоксидантного захисту, таких як СОД та каталаза, що сприяло зниженню інтенсивності запальних процесів і зменшенню пошкодження тканин.

Іншим важливим аспектом є нормалізація імунної регуляції. Всі БКБЗ сприяють корекції імунної відповіді при АІЗ, що проявляється у зниженні рівня цитокінів, таких як $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , що є характерними маркерами запалення, а також зменшенні продукції аутоантитіл, що сприяють ушкодженню тканин. Вивчення цитокінового профілю показало, що КС-МСК, зокрема, ефективно нормалізує баланс про- і протизапальних цитокінів, відновлюючи гомеостаз імунної системи. Це важливо, оскільки АІЗ супроводжуються дисфункцією імунної системи, що призводить до підвищення аутоімунних реакцій і запальних процесів у тканинах органів.

Крім того, БКБЗ позитивно впливають на відновлення енергетичних процесів у клітинах, що є критичним для нормалізації функцій органів, уражених аутоімунними процесами. При АІЗ спостерігаються значні порушення енергетичного обміну в клітинах, що веде до активації катаболічних процесів і накопичення метаболічних відходів, що погіршує функціональний стан тканин. Застосування БКБЗ, зокрема КС-МСК і КЕП, призводить до відновлення рівня аденілових нуклеотидів, зокрема АТФ, що відображає поліпшення енергетичного балансу в клітинах і сприяє відновленню їх нормальної функції. Найбільший ефект у відновленні енергетичного обміну був відзначений при застосуванні КС-МСК, який

сприяв значному підвищенню рівня АТФ і відновленню енергетичного потенціалу клітин, що є необхідним для активації регенераційних процесів.

Не менш важливою складовою ефективності БКБЗ є їх здатність до стимулювання регенерації клітин (рис. 9.8) і тканин, що особливо важливо при АІЗ, коли спостерігається пошкодження органів і тканин, таких як суглоби, печінка, нирки, ЩЗ та серце. БКБЗ стимулюють відновлення клітинних структур, активуючи процеси клітинного циклу та знижуючи рівень клітинної загибелі. КС-МСК, зокрема, продемонстрував здатність значно підвищувати частку клітин у фазі S клітинного циклу, що свідчить про активацію регенеративних процесів. Це особливо важливо при лікуванні АІЗ, які супроводжуються пошкодженням клітин, що потребують відновлення.



Рис. 9.8 Патогенетичні механізми терапевтичної дії БКБЗ при АІЗ

Таким чином, спільними патогенетичними механізмами терапевтичного ефекту БКБЗ при АІЗ (див. рис. 9.8) є нормалізація імунної відповіді, зменшення окислювального стресу, поліпшення антиоксидантного захисту, відновлення енергетичного балансу в клітинах і стимулювання процесів регенерації тканин. Застосування БКБЗ має великий потенціал для лікування АІЗ, що підтверджується їх здатністю покращувати функціональний стан органів і зменшувати запальні процеси. Тому БКБЗ можуть бути перспективними терапевтичними засобами для корекції патогенетичних механізмів АІЗ та покращення якості життя пацієнтів, які страждають від цих захворювань.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена інноваційному підходу до вирішення проблеми ефективності та безпечності терапії аутоімунних захворювань шляхом розробки нових терапевтичних стратегій на основі вперше встановлених механізмів дії біологічних засобів, які не містять клітин, при експериментальному ревматоїдному артриті, розсіяному склерозі, тиреоїдиті, міокардиті, мембранозній нефропатії та гепатиті.

У роботі комплексно розкрито ефекти від застосування безклітинних біологічних засобів (КЕП, КЕС та КС-МСК) при різних аутоімунних захворюваннях та визначено механізми їх дії в контексті органоспецифічних аутоімунних патологій.

1. Встановлено, що БКБЗ мають високу протизапальну активність на моделі АА у щурів. Застосування КЕП призвело до зменшення об'єму ушкодженої кінцівки на 25,1% ($p < 0,001$), КЕС – на 20,0% ($p < 0,001$), а КС-МСК – на 22,0% ($p < 0,001$) на 28 день експерименту порівняно з 14 днем. Зниження рівнів лейкоцитів було таким: 53,4% для КС-МСК, 39,9% для КЕП і 32,4% для КЕС. Зменшення ШОЕ становило: 69,0% для КС-МСК, 52,7% для КЕС і 19,6% для КЕП ($p < 0,001$). Рівень С-реактивного білка знизився на: 54,5% (КС-МСК, $p < 0,01$), 27,3% (КЕП, $p < 0,01$) і 18,2% (КЕС, $p < 0,01$). Зміни вмісту ейкозаноїдів: ПГЕ2 знизився на 24,8% (КС-МСК, $p < 0,05$), ТхВ2 – на 30,3% (КС-МСК, $p < 0,01$) і ЛТВ4 – на 25,6% (КС-МСК, $p < 0,01$). Рівень прозапальних цитокінів також знизився: ІЛ-1 β на 42,2% (КЕС, $p < 0,001$), ІЛ-17 на 31,0% (КС-МСК, $p < 0,001$) і ФНП- α на 10,8% (КЕП, $p = 0,1$). Зниження рівнів протизапальних цитокінів: ІЛ-4 зменшився на 31,3% (КЕП, $p = 0,004$) і ІЛ-10 на 20,5% (КЕС, $p = 0,02$). Оцінка знеболюючої активності показала, що на спінальному рівні ноцицепції КЕП та КС-МСК проявляли співставну аналгетичну активність, яка становила 43,1% та 42,7% відповідно. На супраспінальному рівні ноцицепції найвиразнішу аналгетичну активність виявлено у КС-МСК,

яка становила 54,8%. Таким чином, БКБЗ продемонстрували значний терапевтичний потенціал у корекції запальних процесів при РА.

2. Застосування БКБЗ сприяло покращенню моторних та когнітивних функцій у щурів з АЕМ. Зокрема, застосування КС-МСК призвело до збереження м'язового тону та відновлення рухової активності на 368,6%. Найбільше відновлення дослідницької активності спостерігалось в групі, що отримувала КС-МСК (+347,1%, $p < 0,01$). Лікування КЕП також покращило рухову (286,1%) та емоційну активність, хоча ефекти були менш вираженими, порівняно з КС-МСК. Введення КЕС відновило рухову активність на 102,0%, а емоційну активність на 150,0%, хоча ці зміни не досягали статистичної значущості. Зважаючи на отримані результати, можна зробити висновок, що всі досліджувані БКБЗ сприяють поліпшенню неврологічного статусу при АЕМ, при цьому КС-МСК демонструє найвиразніший результат.
3. Лікування БКБЗ сприяло покращенню метаболічних процесів у головному мозку щурів з АЕМ. Застосування КС-МСК призвело до зниження рівня лактату до $3,0 \pm 0,16$ мкмоль/г ($p < 0,001$) і покращення метаболізму пірувату. Крім того, лікування КС-МСК знизило співвідношення лактат/піруват до $11,0 [8,0; 11,3]$ ($p < 0,001$), що свідчить про нормалізацію енергетичних процесів. Лікування КЕП також позитивно вплинуло на рівень пірувату ($p < 0,001$), хоча зміни залишалися меншими, ніж у групі КС-МСК. КЕП сприяло підвищенню рівня малату до $0,30 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p = 0,024$), в той час як КЕС не вплинув на цей показник. Найбільший ефект щодо відновлення енергетичних процесів у мозку спостерігався при застосуванні КС-МСК, що підтверджує його високу нейропротективну активність.
4. Дослідження показали, що БКБЗ мають значний терапевтичний ефект у лікуванні АІТ. Зокрема, застосування КС-МСК продемонструвало виразний ефект у зниженні рівня АТ до ТГ, зменшивши їх на 13,9% ($p < 0,01$), що свідчить про ефективну корекцію аутоімунної активності. Застосування КЕП та КЕС також призвело до зниження рівня антитіл, проте їх ефект був менш вираженим порівняно з КС-МСК. Крім того,

лікування КС-МСК сприяло зниженню рівня загального ТЗ на 36,6% ($p<0,001$) і Т4 на 22,0% ($p<0,001$), що вказує на нормалізацію функції ЩЗ. Застосування КЕП і КЕС також призвело до зниження цих показників, але ефекти були менш вираженими. Важливим результатом є покращення співвідношення загального до вільного Т4, яке зросло на 62,3% ($p=0,001$) після лікування КС-МСК, що вказує на відновлення гормонального балансу. Лікування КС-МСК також супроводжувалося зниженням рівнів IgA на 19,2% ($p=0,001$), IgM на 39,9% ($p<0,001$) і IgG на 44,3% ($p<0,001$), що свідчить про покращення імунної відповіді. Отже, результати дослідження підтверджують високий терапевтичний потенціал КС-МСК у лікуванні АІТ, нормалізуючи гормональний баланс та покращуючи імунну відповідь.

5. З'ясовано, що застосування БКБЗ ефективно коригує структурні та функціональні порушення серця при АІМ. Введення КЕП зменшило товщину міжшлуночкової перегородки (ТМПД) на 18,7% ($p=0,001$), що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін серця. Це перевищує ефект кордарону, де ТМПД зменшилася на 9,9% ($p=0,01$). КЕС також призвів до статистично значущого зменшення ТМПД на 12,1% ($p=0,006$). Крім того, КЕП знизив кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка (КСО) на 62,0% ($p<0,001$), що підтверджує виражений кардіопротекторний ефект препарату. У групі КЕП значно покращилися функціональні показники: об'єм хвилинного викиду (ХО) збільшився на 97,5%, до 232 [227; 313] мл/хв ($p=0,004$), а фракція викиду підвищилася до 80,1% ($p<0,001$). У групі КЕС спостерігалось менше покращення: ХО зріс на 50,5% ($p=0,05$), фракція викиду досягла 60,4% ($p=0,01$), але ефект був статистично значущим. Водночас, відновлення антиоксидантної активності спостерігалось на фоні лікування БКБЗ: КС-МСК відновив інтегральний показник антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу до $22,8\pm0,9$, що було значно вище за показники КЕП ($18,9\pm3,4$), КЕС ($17,1\pm2,0$) та кордарону ($16,2\pm2,5$). Таким чином, результати підтверджують високу ефективність БКБЗ, особливо КС-МСК, у

лікуванні АІМ, відновлюючи як структурні, так і функціональні показники серця.

6. Визначено, що БКБЗ мають виражену нефропротекторну активність при аутоімунному нефриті у щурів. Застосування цих засобів сприяє відновленню функціональної активності нирок, що підтверджується покращенням показників ШКФ та зниженням рівнів креатиніну та сечовини в крові. За виразністю нефропротекторного ефекту БКБЗ можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (ШКФ: 856 ± 59 мкл/хв) > КЕС (ШКФ: 551 ± 43 мкл/хв) > КЕП (ШКФ: 504 ± 19 мкл/хв). При цьому КС-МСК найефективніше знижує протеїнурію (65,8%, $p < 0,001$) та відновлює кліренс креатиніну (123,4%, $p < 0,001$), порівняно з іншими препаратами. Також відзначено, що на тлі АІН відбувається значне збільшення вмісту ейкозаноїдів у тканинах нирок: ПГЕ2 зріс у 2,9 рази, ТхВ2 – у 5,5 рази, ЛТВ4 – у 10,5 разів. Застосування БКБЗ сприяє зниженню цих показників, причому найбільше зниження ЛТВ4 (42,9%, $p = 0,005$) спостерігається при введенні КЕП, а ПГЕ2 і ТхВ2 значно зменшуються при застосуванні КС-МСК (43,5% і 44,4% відповідно, $p < 0,001$). Оцінка впливу на гіперактивність iNOS і активність cNOS показала, що КС-МСК найефективніше нормалізує ці показники, знижуючи гіперактивність iNOS на 54,5% ($p < 0,001$) і активність cNOS на 57,9% ($p = 0,05$), що підтверджує його значний терапевтичний потенціал у лікуванні нефриту Хеймана.
7. Введення БКБЗ на тлі аутоімунного гепатиту (АІГ) у щурів значно покращувало пігментний обмін: рівень загального білірубіну знижувався на 52,6% при застосуванні КС-МСК, на 49,6% – КЕП, та на 40,2% – КЕС (усі $p < 0,001$). Це вказує на ефективність БКБЗ у корекції порушень пігментного обміну. Препарати також знижували прояви цитолітичного синдрому: АлАт – на 35,0% при КЕП і КС-МСК ($p < 0,05$), АсАт – при КС-МСК ($p < 0,001$), γ -ГТП – при КЕП (27,1%, $p = 0,024$) та КС-МСК (27,4%, $p = 0,012$). Найбільше зниження ЛФ спостерігалось при КС-МСК – на 27,9% ($p = 0,009$). Застосування КС-МСК сприяло підвищенню рівня загального білка на 20,2% ($p < 0,001$) до $72,1 \pm 1,6$ г/л, що перевищувало

ефект силібора на 14,3% ($p=0,01$). За відновленням А/Г-співвідношення БКБЗ розташовуються так: КЕС (72,9%; $p=0,003$) > КС-МСК (51,7%; $p=0,005$) > КЕП (36,2%; $p=0,009$).

8. Доведено, що за здатністю відновлювати баланс в системі ПОЛ-АОС при АІГ досліджувані БКБЗ розташовуються у такій послідовності (% зростання АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$). За здатністю відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах щурів з АІГ – за % зміни рівня АЕЗ відносно показників тварин групи контролю: КС-МСК (+65,8%; $p<0,001$) > КЕП (+41,7%; $p<0,01$) > КЕС (+37,3%; $p<0,01$). Встановлено, що застосування БЕБЗ сприяло усуненню порушень клітинного циклу гепатоцитів, індукованих АІГ. Згідно з результатами ДНК-цитометрії, було зафіксовано значне зменшення частки гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1), при цьому найбільш виражене зменшення спостерігалось у групі КС-МСК (71,2%; $p<0,001$), потім у групах КЕП (50,0%; $p<0,001$) та КЕС (45,4%; $p<0,001$).

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

За результатами проведених доклінічних досліджень щодо вивчення ефективності БКБЗ, сформульовано такі практичні рекомендації:

1. Отримані у ході дослідження нові експериментальні дані щодо ефективності БКБЗ при моделюванні аутоімунних захворювань (ревматоїдного артриту, аутоімунного тиреоїдиту, аутоімунного міокардиту тощо) дозволяють поглибити уявлення про потенційні механізми їх дії та сформулювати науково обґрунтовані гіпотези щодо доцільності подальшого вивчення цих засобів з метою їх перспективного застосування у клінічній практиці.
2. Виявлені кардіопротекторні, нефропротекторні, нейропротективні та інші біологічні ефекти КЕП, КЕС і КС-МСК свідчать про наявність у цих сполук значного терапевтичного потенціалу, що доцільно враховувати при плануванні майбутніх доклінічних і клінічних досліджень, спрямованих на створення нових підходів до комплексної терапії аутоімунної патології.
3. Результати проведеного дослідження можуть бути використані як теоретичне підґрунтя для подальшої науково-дослідної роботи, спрямованої на обґрунтування механізмів дії БКБЗ, оптимізацію їх складу та визначення доцільних напрямів медичного застосування.
4. Експериментальні дані, отримані у процесі дослідження, доцільно включати до освітніх програм закладів вищої освіти медичного та фармацевтичного профілю з метою удосконалення підготовки майбутніх фахівців та ознайомлення їх із сучасними тенденціями розвитку імуномодуючої й органопротективної терапії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pisetsky DS. Pathogenesis of autoimmune disease. *Nature Reviews Nephrology*. **2023**;19(8):509–24. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41581-023-00720-1>
2. Xu Q, Ni JJ, Han BX, Yan SS, Wei XT, Feng GJ, Zhang H, Zhang L, et al. Causal relationship between gut microbiota and autoimmune diseases: a two-sample mendelian randomization study. *Frontiers in Immunology*. **2022**;12:746998. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.746998>
3. Fugger L, Jensen LT, Rossjohn J. Challenges, progress, and prospects of developing therapies to treat autoimmune diseases. *Cell*. **2020**;181(1):63–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.007>
4. Wu F, Gao J, Kang J, Wang X, Niu Q, Liu J, Zhang L. Knowledge mapping of exosomes in autoimmune diseases: a bibliometric analysis (2002–2021). *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:939433. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.939433>
5. Doria A, Amoura Z, Cervera R, Khamastha MA, Schneider M, Richter J, Guillemain F, Kobelt G, et al. Annual direct medical cost of active systemic lupus erythematosus in five European countries. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2014**;73(1):154–60. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-202443>
6. Hammond ER, Desta B, Near AM, Wang X, Jiang M. Frequency, severity and costs of flares increase with disease severity in newly diagnosed systemic lupus erythematosus: a real-world cohort study, United States, 2004–2015. *Lupus Science & Medicine*. **2021**;8(1):e000504. DOI: <https://doi.org/10.1136/lupus-2021-000504>
7. Strzelec M, Detka J, Mieszczak P, Sobocińska MK, Majka M. Immunomodulation-a general review of the current state-of-the-art and new therapeutic strategies for targeting the immune system. *Frontiers in Immunology*. **2023**;14:1127704. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1127704>
8. Nitkin CR, Rajasingh J, Pisano C, Besner GE, Thebaud B, Sampath V. Stem cell therapy for preventing neonatal diseases in the 21st century: current

- understanding and challenges. *Pediatric Research*. **2020**;87(2):265–76. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0425-5>
9. Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy. *Annual Review of Physiology*. **2015**;77:13–27. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021014-071641>
 10. Damianos A, Sammour I. Barriers in translating stem cell therapies for neonatal diseases. *Seminars in Perinatology*. **2023**;47(3):151731. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2023.151731>
 11. Ferreira JR, Teixeira GQ, Santos SG, Barbosa MA, Almeida-Porada G, Goncalves RM. Mesenchymal stromal cell secretome: influencing therapeutic potential by cellular pre-conditioning. *Frontiers in Immunology*. **2018**;9:2837. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02837>
 12. Joo HS, Suh JH, Lee HJ, Bang ES, Lee JM. Current knowledge and future perspectives on mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic agent. *International Journal of Molecular Sciences*. **2020**;21(3):727. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21030727>
 13. Pan W, Chen H, Wang A, Wang F, Zhang X. Challenges and strategies: Scalable and efficient production of mesenchymal stem cells-derived exosomes for cell-free therapy. *Life Sciences*. **2023**;319:121524. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121524>
 14. Marolt Presen D, Traweger A, Gimona M, Redl H. Mesenchymal stromal cell-based bone regeneration therapies: from cell transplantation and tissue engineering to therapeutic secretomes and extracellular vesicles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **2019**;7:352. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00352>
 15. Caplan AI. Mesenchymal stem cells: time to change the name! *Stem Stem Cells Translational Medicine*. **2017**;6(6):1445–51. DOI: <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051>
 16. Cunningham CJ, Redondo-Castro E, Allan SM. The therapeutic potential of the mesenchymal stem cell secretome in ischaemic stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. **2018**;38:1276–92. DOI: <https://doi.org/10.1177/0271678X18776802>
 17. Villatoro AJ, Alcoholado C, Martin-Astorga MC, Fernandez V, Cifuentes M, Becerra J. Comparative analysis and characterization of soluble factors and

- exosomes from cultured adipose tissue and bone marrow mesenchymal stem cells in canine species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **2019**;208:6–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.12.003>
18. Stoorvogel W. Functional transfer of microRNA by exosomes. *Blood*. **2012**;119:646–8.
 19. Phan J, Kumar P, Hao D, Gao K, Farmer D, Wang A. Engineering mesenchymal stem cells to improve their exosome efficacy and yield for cell-free therapy. *Journal of Extracellular Vesicles*. **2018**;7(1):1522236. DOI: <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1522236>
 20. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. **2017**;18:58–61. DOI: <https://doi.org/10.1159/000169947>
 21. Park SJ, Kim HJ, Kim W, Kim OS, Lee S, Han SY, Jeong EJ, Park HS, et al. Tumorigenicity evaluation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Toxicological research*. **2016**;32:251–8.
 22. Lesage F, Thebaud B. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles for neonatal lung disease: tiny particles, major promise, rigorous requirements for clinical translation. *Cells*. **2022**;11(7):1176. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11071176>
 23. Fedulova LV, Basov AA, Vasilevskaya ER, Dzhimak SS. Gender difference response of male and female immunodeficiency rats treated with tissue-specific biomolecules. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. **2019**;20(3):245–53. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389201020666190222184814>
 24. Goltsev AM, Yurchenko TM. (eds.) Blazhko EV, Bobyрева LE, Heraskyna LR, Hryshchenko VY, Hubyna-Vakulyk HY, Dvornyk YL, et al. Placenta: cryopreservation, clinical application. Kharkiv; **2013**. 268 p.
 25. Hryshchenko VI, Yurchenko TM, ed. Placenta: cryopreservation, structure, properties and prospects of clinical application. Kharkiv, **2011**. 292 p.
 26. Гладких ФВ. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2022**. 216 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>

27. Wu T, He J, Yan S, Li J, Chen K, Zhang D, Cheng M, Xiang Z, et al. Human placental extract suppresses mast cell activation and induces mast cell apoptosis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. **2023**;19(1):98. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13223-023-00850-y>
28. Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and function of the immune system in the spleen. *Science Immunology*. **2019**;4(33):eaau6085. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau6085>
29. Byzov VV. The use of cryopreserved xenospleen fragments in the treatment of patients with purulent processes in the lungs and pleura. *Problems of cryobiology*. **2000**;1:81–5.
30. Rozanova SL, Naumenko YI, Nardid EO. Influence of low temperature storage and ultrasonic treatment of placenta on its extracts antioxidant properties. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*, **2015**;25(3):255–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.03.255>
31. Гладких ФВ. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. *Клінічна та профілактична медицина*. **2023**;6(28):121–30. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>
32. Гладких ФВ. Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артриту: від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу. *Східноукраїнський медичний журнал*. **2023**;11(4):326–36. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336)
33. Гладких ФВ. Безклітинні біологічні засоби: фокус на кондиціоновані середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Одеський медичний журнал*. **2023**;185(4):75–82. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15>
34. Гладких ФВ. Роль аутоімунних процесів при демієлінізуючих захворюваннях нервової системи: фокус на розсіяний склероз. *Міжнародний неврологічний журнал*. **2023**;19(7):223–32. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.7.2023.1026>
35. Гладких ФВ. Імунопатологічні аспекти етіопатогенезу міокардиту. *Український кардіологічний журнал*. **2024**;31(1):103–12. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>

36. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Аналгетичний потенціал кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. *Одеський медичний журнал*. 2024;186(1):35–41. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-1-6>
37. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Соловйов СО. Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосуванні кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Клінічна та профілактична медицина*. 2024;7(37):24–37. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.7.2024.03>
38. Гладких ФВ. Оцінка впливу кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та кріоекстрактів біологічних тканин на прояви цитолітичного синдрому при експериментальному аутоімунному гепатиті. 2024;6(191):45–50. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8>
39. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на рівень протизапальних та регуляторних цитокінів при експериментальному аутоімунному артриті. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2024;12(4):937–45. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12\(4\):937-945](https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12(4):937-945). Режим доступу: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/711/375>
40. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Чиж МО. Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. *Український кардіологічний журнал*. 2024;31(6):35–46. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>
41. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024;32(3):275–89. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-01>
42. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних

- стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(4):521–34. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>
43. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Стан NO-ергічного гомеостазу при експериментальному аутоімунному гломерулонефриті на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Нирки*. **2024**;13(3):203–12. DOI: <https://doi.org/10.22141/2307-1257.13.3.2024.465>
44. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Ефективність безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при аутоімунному артриті за даними гематологічних змін. *Україна. Здоров'я нації*. **2024**;2(76):55–60. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.2/09>
45. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Експериментальне вивчення нефропротекторних властивостей кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин при аутоімунній мембранозній нефропатії. *Україна. Здоров'я нації*. **2024**;3(77):106–14. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.3/17>
46. Гладких ФВ. Оцінка орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Психіатрія, неврологія та медична психологія*. **2024**;11(2(24)):124–37. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02>
47. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Матвєєнко МС. Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Психіатрія, неврологія та медична психологія*. **2024**;11(4):361–378. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-26-02>
48. Hladkykh FV, Komorovsky RR, Liadova TI. Cell-free cryopreserved biological agents for cardiac protection in autoimmune myocarditis: a morphofunctional study. *Scripta Medica*. **2025**; 6(2):233–43. DOI: <https://doi.org/10.5937/scriptamed56-56858>

49. Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, Karafulidi OV, Komorovsky RR. Advances in cardioprotective strategies: bridging traditional pharmacotherapy and regenerative medicine. *Scripta Medica*. **2025**;56(3):521–35. DOI: <https://10.5937/scriptamed56-58719>
50. Гладких ФВ. Сучасний концепт участі тиреоїдних антигенів та цитокінів у імунопатогенезі аутоімунного тиреоїдиту. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. **2023**;4(84):22–31. DOI: <https://doi.org/10.30978/CEES-2023-4-22>
51. Гладких ФВ. Перспективи застосування імунomodуляторів у лікуванні хворих на аутоімунних захворювань: фокус на екстракти біологічних тканин (кріоекстракт плаценти та кріоекстракт селезінки). *Імунологія та алергологія: наука і практика*. **2023**;4:29–46. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>
52. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Порівняльна характеристика антифлогістичної активності кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного артриту. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина»*. **2024**;1(69):53–9. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.69.9>
53. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у щурів зі змодельованим ад'ювантом Фрейнда артритом. *Health & Education*. **2024**;1:32–40. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4>
54. Гладких ФВ. Біохімічна оцінка активності запального процесу під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного артриту у щурів. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2024**;1(15):8–12. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-1>
55. Гладких ФВ. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. *Health & Education*. **2024**;2:23–30. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4>
56. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Дослідження впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на рівень прозапальних

- цитокинів при експериментальному аутоімунному артриті. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. **2024**;2:28–37. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2024.2-04>
57. Гладких ФВ. Динаміка неврологічного дефіциту у щурів зі змодельованим еквівалентом розсіяного склерозу під впливом кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Актуальні проблеми профілактичної медицини*. **2024**;27:19–28. DOI: <https://doi.org/10.32782/2786-9067-2024-27-3>
58. Гладких ФВ. Функціональний стан нирок при експериментальному нефриті Хеймана на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2024**;2(16):13–23. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-2-2>
59. Гладких ФВ. Імунопатогенез мембранозної нефропатії та перспективи біологічної терапії: підводні камені та перли (огляд). *Актуальні проблеми транспортної медицини*. **2024**;3(77):11–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820820>
60. Гладких ФВ. Імунні порушення при аутоімунному гепатиті: роль аутоантитіл, Т-рег клітин та новітні терапевтичні підходи. *Буковинський медичний вісник*. **2024**;28(3):76–82. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.3.111.2024.13>
61. Гладких ФВ. Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина»*. **2024**;2(70):29–34. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.70>
62. Гладких ФВ. Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосування кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Health & Education*. **2024**;3:12–21. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.2>
63. Гладких ФВ. Білковосинтезуюча функція печінки при аутоімунному гепатиті: оцінка впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних

- засобів в експерименті. *Здоров'я суспільства*. **2024**;13(1):20–8. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.13.1.2024.318>
64. Гладких ФВ. Оцінка рівня імуноглобулінів А, М і G на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. **2024**; 4(88):36–43. DOI: <http://doi.org/10.30978/CEES-2024-4-36>
65. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвеєнко МС, Коморовський РР. Порівняльна характеристика морфофункціонального стану серця при застосуванні кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на моделі аутоімунного міокардиту за даними ультразвукового дослідження. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2024**;4(18):27–36. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-4-4>
66. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвеєнко МС, Коморовський РР. Ехокардіографічна оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки на функціональний стан міокарда при експериментальному аутоімунному міокардиті. *Здоров'я суспільства*. **2024**;14(2):16–24. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.14.2.2024.314>
67. Гладких ФВ. Характеристика пігментного обміну на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. **2024**;16(2):258–61. DOI: <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.02.258>
68. Гладких ФВ. Оцінка ефективності застосування кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. *Матеріали 93-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині та фармації»*; 28–30 березня 2024; Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; **2024**, с. 242. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964105>
69. Гладких ФВ. Динаміка неврологічного дефіциту на тлі застосування кріоекстрактів селезінки та плаценти при експериментальному алергічному енцефаломієліті. *Матеріали XXVIII конгресу студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»*; 8–10 квітня 2024; Тернопіль:

- Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України; 2024, с. 45.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10972506>
70. Гладких ФВ. Вміст простагландину E2 на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при ад'ювантному артриті у щурів. *Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині»*; 21–22 березня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2024, с. 133–4.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964176>
71. Гладких ФВ. Вплив кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на м'язовий тонус у щурів з ад'ювант-індукованим експериментальним розсіяним склерозом. *Матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*; 22 березня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2024, с. 198–9.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964238>
72. Гладких ФВ. Порівняльна характеристика супраспінального компоненту антиноцицептивної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного артриту. *Матеріали XXI Міжнародної наукової конференції студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»*; 18–19 квітня 2024; Харків: Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України; 2024, с. 77–9.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10987152>
73. Гладких ФВ. Оцінка впливу безклітинних біологічних засобів на інтенсивність запального процесу за вмістом лейкотрієну B4. *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку»*; 9–12 квітня 2024; Одеса: Одеський національний університет імені І.І. Мечникова МОН України; 2024, с. 329–31.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10987593>
74. Гладких ФВ. Стан антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах серця на тлі введення кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному

- аутоімунному міокардиті. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Молодіжна наука – 2024»*; 17 травня 2024; Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; **2024**, с. 28–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12093412>
75. Гладких ФВ. Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на окремі біохімічні показники крові при експериментальному аутоімунному артриті. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «Перспективи та інновації у науці молодих вчених в умовах військового часу»*; 23 травня 2024; Харків: Державна установа «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» та ін.; **2024**, с. 14–5. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12093618>
76. Гладких ФВ. Порівняльна характеристика нефротропної дії безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів за показниками функціональної активності нирок на моделі активного аутоімунного нефриту. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія»*; 23–24 жовтня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет України МОЗ України; **2024**, с. 54–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14051834>
77. Гладких ФВ. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у нирках щурів при аутоімунному нефриті Хеймана. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України»*; 24–25 жовтня 2024; Київ: Державна установа «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзеєва НАМН України» та ін.; **2024**, с. 96–7. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.13998585>
78. Гладких ФВ. Вплив безклітинних біотехнологічних препаратів на клітинний цикл гепатоцитів на моделі аутоімунного гепатиту. *Матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»*; 17–18 жовтня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.

Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 132–3.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14049866>

79. Гладких ФВ. Порівняльна оцінка впливу кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на білковосинтезуючу функцію печінки на моделі аутоімунного гепатиту. *Матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*; 14 листопада 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет України МОЗ України; **2024**, с. 128–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14547640>
80. Гладких ФВ. Характеристика синтезу білка при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі введення кондиціонованого середовища мезехімальних стовбурових клітин. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку»*; 12–14 грудня 2024 р.; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України; **2024**, с. 47–50. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14941003>
81. Гладких ФВ. Оцінка гепатопротекторних властивостей безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів за інтенсивністю цитолітичного синдрому. *Збірник матеріалів I науково-практичної конференції «Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень»*; 3–4 грудня 2024 р.; Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; **2024**, с. 154–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14563056>
82. Hladkykh FV. Thyroprotective properties of conditioned medium from mesenchymal stem cells in experimental autoimmune thyroiditis. *The 5th International scientific-theoretical conference "Modern vision of implementing innovations in scientific studies"*; February 14, 2025; Marseille (France): European Scientific Platform; **2025**, p. 247–50. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14870581>
83. Hladkykh FV. Therapeutic potential of conditioned media from mesenchymal stem cells in regulating NO production in kidney disease. *Materials of the 4th International scientific-practical conference "Science in motion: classic and modern tools and methods in scientific investigations"*; February 21, 2025; Vinnytsia-Vienna (Austria): International Centre Corporate Management &

- European Scientific Platform»; **2025**, p. 1190–2.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14913939>
84. Hladkykh FV. Study of the therapeutic effects of placenta and spleen cryoextracts in an autoimmune thyroiditis model: changes in hormonal balance. *Materials of the VIII International scientific and practical conference "Theoretical and empirical scientific research: concept and trends"*; March 7 2025; Oxford (United Kingdom): Oxford Sciences LTD & European Scientific Platform; **2025**, p. 361–3. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.078>
85. Гладких ФВ. Відновлення скоротливості міокарда за допомогою кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин в умовах експериментального аутоімунного міокардиту. *Матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»*; 15 травня 2025 р.; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2025**, с. 108–110.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15504630>
86. Гладких ФВ. Експериментальне дослідження терапевтичного потенціалу кріоекстрактів при аутоімунному ураженні міокарда. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Харків. Інновації у медицині: сучасні виклики та розвиток науки молодими вченими в умовах військового часу»*; 15–16 травня 2025 р.; Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» та ін.; **2025**, с. 14.
DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15658766>
87. Гладких ФВ. Ревматоїдний артрит: імунологічні механізми, системні ускладнення та новітні терапевтичні стратегії. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 360 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.6>
88. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Красносельський МВ, Матвеєнко МС, Рубльова ТВ, Рудас ІА. Мультимодальність нейропротекції при черепно-мозкових травмах та неврологічних захворюваннях. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 264 с.
DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.2>

89. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Коморовський РР, Бабаєва ГГ, Матвеєнко МС. Кардіоселективність кріобіотехнологічних засобів у терапії серцево-судинних захворювань. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 376 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>
90. Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО. Гепатопротекція: інноваційні стратегії та клінічні перспективи біотехнологічних підходів. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2024**. 176 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.1>
91. Чиж МО, Гальченко СС, Гладких ФВ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Белочкіна ІВ, Слета ІВ. Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби: технологія отримання та визначення складу. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2024**. 264 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2024.1>
92. Чиж МО, Гальченко СС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Беспалова ІГ, Белочкіна ІВ, Слета ІВ, Матвеєнко МС, Кошурба ІВ, Глоба ВЮ. Метаболічні, регенеративні та імунологічні властивості водно-сольових екстрактів кріоконсервованих тканин. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 304 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.5>
93. Гладких ФВ, Кошурба ІВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвеєнко МС. Ульцерогенність: стратегії превенції та новітні підходи до лікування виразкової хвороби шлунка. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 208 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.3>
94. Гладких ФВ. Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(3):414–39 DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>
95. Гладких ФВ, Белочкіна ІВ, Кошурба ІВ, Чиж МО. Сучасна гепатопротекція: наративний огляд існуючих підходів та перспективи використання біотехнологічних препаратів. *Сучасні медичні технології*. **2023**;3(58):58–65. DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.3\(58\).2023.9](https://doi.org/10.34287/MMT.3(58).2023.9)
96. Гладких Ф.В. Лізис клітин циклами «заморожуванням-відтаювання» – перспективний підхід до створення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів – кріоекстрактів фрагментів органів ссавців. Матеріали Х науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів

- створення лікарських препаратів»; 17–18 жовтня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 162–4. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14049968>
97. Гладких ФВ. Аутозапальний синдром, індукований ад'ювантами: імунопатогенез та новітні терапевтичні стратегії. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку»*; 12–14 грудня 2024 р.; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України; **2024**, с. 53–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14941177>
 98. Yang S, Zhao M, Jia S. Macrophage: key player in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*. **2023**;14:1080310. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1080310>
 99. Juarranz Y. Molecular and cellular basis of autoimmune diseases. *Cells*. **2021**;10(2):474. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10020474>
 100. Rose NR. Prediction and prevention of autoimmune disease in the 21st century: a review and preview. *American Journal of Epidemiology*. **2016**;183(5):403–6. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwv292>
 101. Root-Bernstein R, Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology*. **2015**;375:101–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>
 102. Conforti A, Di Cola I, Pavlych V, Ruscitti P, Berardicurti O, Ursini F, Giacomelli R, Cipriani P. Beyond the joints, the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews*. **2021**;20(2):102735. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102735>
 103. Radu AF, Bungau SG. Management of rheumatoid arthritis: an overview. *Cells*. **2021**;10(11):2857. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10112857>
 104. Joseph A, Brasington R, Kahl L, Ranganathan P, Cheng TP, Atkinson J. Immunologic rheumatic disorders. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. **2010**;125:204–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.067>
 105. Littlejohn EA, Monrad SU. Early diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis. *Primary Care*. **2018**;45(2):237–55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pop.2018.02.010>

106. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. **2016**;388(10055):2023–38. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30173-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8)
107. Oberemok VV, Andreeva O, Laikova K, Alieva E, Temirova Z. Rheumatoid arthritis has won the battle but not the war: how many joints will we save tomorrow? *Medicina (Kaunas)*. **2023**;59(10):1853. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina59101853>
108. Lin YJ, Anzaghe M, Schulke S. Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis. *Cells*. **2020**;9(4):880. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9040880>
109. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*. **2017**;46(2):183–96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006>
110. Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ, Xu J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Research*. **2018**;6:15. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41413-018-0016-9>
111. Ospelt C, Gay S, Klein K. Epigenetics in the pathogenesis of RA. *Seminars in Immunopathology*. **2017**;39(4):409–19. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0621-5>
112. Mydel P, Wang Z, Brisslert M, Hellvard A, Dahlberg LE, Hazen SL, Bokarewa M. Carbamylation-dependent activation of T cells: a novel mechanism in the pathogenesis of autoimmune arthritis. *Journal of Immunology*. **2010**;184(12):6882–90. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000075>
113. Derksen VFAM, Huizinga TWJ, van der Woude D. The role of autoantibodies in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*. **2017**;39(4):437–46. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0627-z>
114. Konig MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, Rosen A, Nigrovic PA, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Science Translational Medicine*. **2016**;8(369):369ra176. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaj1921>

115. Aquino SG, Abdollahi-Roodsaz S, Koenders MI, van de Loo FA, Pruijn GJ, Marijnissen RJ, Walgreen B, Helsen MM, et al. Periodontal pathogens directly promote autoimmune experimental arthritis by inducing a TLR2- and IL-1-driven Th17 response. *Journal of Immunology*. **2014**;192(9):4103–11. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301970>
116. Scher JU, Szczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, Rostron T, Cerundolo V, et al. Expansion of intestinal prevotella copri correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *Elife*. **2013**;2:e01202. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.01202>
117. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, Kavanaugh A, McInnes IB, et al. Rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Disease Primers*. **2018**;4:18001. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.1>
118. Makrygiannakis D, Hermansson M, Ulfgren AK, Nicholas AP, Zendman AJ, Eklund A, Grunewald J, Skold CM, et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2008**;67(10):1488–92. DOI: <https://doi.org/10.1136/ard.2007.075192>
119. Malmstrom V, Gronwall C. The parallel worlds of ACPA-positive and RF-positive B cells. *Nature Reviews Rheumatology*. **2018**;14(11):626–8. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41584-018-0094-5>
120. Tiwari V, Jandu JS, Bergman MJ. Rheumatoid factor. StatPearls: Treasure Island; **2023**. PMID: 30422493
121. Mueller AL, Payandeh Z, Mohammadkhani N, Mubarak SMH, Zakeri A, Alagheband Bahrami A, Brockmueller A, Shakibaei M. Recent advances in understanding the pathogenesis of rheumatoid arthritis: new treatment strategies. *Cells*. **2021**;10(11):3017. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10113017>
122. Song YW, Kang EH. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. *QJM: An International Journal of Medicine*. **2010**;103(3):139–46. DOI: <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcp165>
123. Maibom-Thomsen SL, Trier NH, Holm BE, Hansen KB, Rasmussen MI, Chailyan A, Marcatili P, Hojrup P, et al. Immunoglobulin G structure and

- rheumatoid factor epitopes. *PLoS One*. **2019**;14(6):e0217624.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217624>
124. Deane KD, Norris JM, Holers VM. Preclinical rheumatoid arthritis: identification, evaluation, and future directions for investigation. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. **2010**;36(2):213–41.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2010.02.001>
125. Wu CY, Yang HY, Luo SF, Lai JH. From rheumatoid factor to anti-citrullinated protein antibodies and anti-carbamylated protein antibodies for diagnosis and prognosis prediction in patients with rheumatoid arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. **2021**;22(2):686.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020686>
126. Falkenburg WJJ, von Richthofen HJ, Rispens T. On the origin of rheumatoid factors: insights from analyses of variable region sequences. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. **2019**;48(4):603–10.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2018.06.006>
127. Bluett J, Sergeant JC, MacGregor AJ, Chipping JR, Marshall T, Symmons DPM, Verstappen SMM. Risk factors for oral methotrexate failure in patients with inflammatory polyarthritis: results from a UK prospective cohort study. *Arthritis Research & Therapy*. **2018**;20(1):50.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1544-9>
128. Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R. Rheumatoid factors: clinical applications. *Disease Markers*. **2013**;35(6):727–34.
<https://doi.org/10.1155/2013/726598>
129. Edilova MI, Akram A, Abdul-Sater AA. Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Biomedical Journal*. **2021**;44(2):172–82.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.06.010>
130. Iberg CA, Jones A, Hawiger D. Dendritic cells as inducers of peripheral tolerance. *Trends in Immunology*. **2017**;38(11):793–804.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.07.007>
131. Yu MB, Langridge WHR. The function of myeloid dendritic cells in rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*. **2017**;37(7):1043–51.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00296-017-3671-z>

132. Eisenbarth SC. Dendritic cell subsets in T cell programming: location dictates function. *Nature Reviews Immunology*. **2019**;19(2):89–103. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0088-1>
133. Reynolds G, Gibbon JR, Pratt AG, Wood MJ, Coady D, Raftery G, Lorenzi AR, Gray A, et al. Synovial CD4⁺ T-cell-derived GM-CSF supports the differentiation of an inflammatory dendritic cell population in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2016**;75(5):899–907. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-206578>
134. Saferding V, Bluml S. Innate immunity as the trigger of systemic autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity*. **2020**;110:102382. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102382>
135. Segura E, Touzot M, Bohineust A, Cappuccio A, Chiocchia G, Hosmalin A, Dalod M, Soumelis V, Amigorena S. Human inflammatory dendritic cells induce Th17 cell differentiation. *Immunity*. **2013**;38(2):336–48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.10.018>
136. Khan S, Greenberg JD, Bhardwaj N. Dendritic cells as targets for therapy in rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. **2009**;5(10):566–71. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2009.185>
137. Bell GM, Anderson AE, Diboll J, Reece R, Eltherington O, Harry RA, Fouweather T, MacDonald C, et al. Autologous tolerogenic dendritic cells for rheumatoid and inflammatory arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2017**;76(1):227–34. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-208456>
138. Spiering R, Jansen MAA, Wood MJ, Fath AA, Eltherington O, Anderson AE, Pratt AG, van Eden W, et al. Targeting of tolerogenic dendritic cells to heat-shock proteins in inflammatory arthritis. *Journal of Translational Medicine*. **2019**;17(1):375. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2128-4>
139. Filer A, Parsonage G, Smith E, Osborne C, Thomas AM, Curnow SJ, Rainger GE, Raza K, et al. Differential survival of leukocyte subsets mediated by synovial, bone marrow, and skin fibroblasts: site-specific versus activation-dependent survival of T cells and neutrophils. *Arthritis & Rheumatology*. **2006**;54(7):2096–108. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.21930>
140. Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, Negishi-Koga T, Komatsu N, Terashima A, Sawa S, Nitta T, et al. Osteoimmunology: the conceptual

- framework unifying the immune and skeletal systems. *Physiological Reviews*. **2017**;97(4):1295–349. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2016>
141. Burmester GR, Pope JE. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. *Lancet*. **2017**;389(10086):2338–48. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31491-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31491-5)
 142. Vollenhoven RF. New therapeutic approaches in rheumatoid arthritis. *La Presse medicale*. **2016**;45(6):179–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.05.004>
 143. Fassmer AM, Garbe E, Schmedt N. Frequency and trends of disease-modifying antirheumatic drug (DMARD) use in Germany. *Pharmacology Research & Perspectives*. **2016**;4(5):e00254. DOI: <https://doi.org/10.1002/prp2.254>
 144. Fraenkel L, Bathon JM, England BR, St Clair EW, Arayssi T, Carandang K, Deane KD, Genovese M, et al. Guideline for the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care & Research Journal*. **2021**;73(7):924–39. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.24596>
 145. Fontaine MJ, Shih H, Schafer R, Pittenger MF. Unraveling the mesenchymal stromal cells paracrine immunomodulatory effects. *Transfusion Medicine Reviews*. **2016**;30(1):37–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2015.11.004>
 146. Miranda JP, Camoes SP, Gaspar MM, Rodrigues JS, Carneiro M, Barcia RN, Cruz P, Cruz H, et al. The secretome derived from 3D-cultured umbilical cord tissue MSCs counteracts manifestations typifying rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*. **2019**;10:18. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00018>
 147. Coutinho Costa VG, Araujo SE, Alves-Leon SV, Gomes FCA. Central nervous system demyelinating diseases: glial cells at the hub of pathology. *Frontiers in Immunology*. **2023**;14:1135540. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1135540>
 148. Hodler J, Kubik-Huch RA, von Schulthess GK, ed. Diseases of the brain, head and neck, spine 2020–2023. Diagnostic Imaging. Cham: Springer; **2020**. 252 p. Режим доступа: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-38490-6>
 149. Canellas AR, Gols AR, Izquierdo JR, Subirana MT, Gairin XM. Idiopathic inflammatory-demyelinating diseases of the central nervous system.

Neuroradiology. **2007**;49(5):393–409.

DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00234-007-0216-2>

150. Ismail II, Salama S. Association of CNS demyelination and COVID-19 infection: an updated systematic review. *Journal of Neurology*. **2022**;269(2):541–76. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10752-x>
151. Ismail II, Salama S. A systematic review of cases of CNS demyelination following COVID-19 vaccination. *Journal of Neuroimmunology*. **2022**;362:577765. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2021.577765>
152. Hill RA, Li AM, Grutzendler J. Lifelong cortical myelin plasticity and age-related degeneration in the live mammalian brain. *Nature Neuroscience*. **2018**;21(5):683–95. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0120-6>
153. Balestri S, Del Giovane A, Sposato C, Ferrarelli M, Ragnini-Wilson A. The Current challenges for drug discovery in CNS remyelination. *International Journal of Molecular Sciences*. **2021**;22(6):2891. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22062891>
154. Walton C, King R, Rechtman L, Kaye W, Leray E, Marrie RA, Robertson N, La Rocca N, et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: insights from the atlas of MS, third edition. *Multiple Sclerosis Journal*. **2020**;26(14):1816–21. DOI: <https://doi.org/10.1177/1352458520970841>
155. Lubetzki C, Zalc B, Williams A, Stadelmann C, Stankoff B. Remyelination in multiple sclerosis: from basic science to clinical translation. *Lancet Neurology*. **2020**;19(8):678–88. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30140-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30140-X)
156. Hoftberger R, Lassmann H. Inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. *Handbook of Clinical Neurology*. **2017**;145:263–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00019-5>
157. Charcot JM. Histologie de le sclerose en plaques. *Gazette Hopitaux*. **1868**;41(557–8):566.
158. Amin M, Hersh CM. Updates and advances in multiple sclerosis neurotherapeutics. *Neurodegenerative Disease Management*. **2023**;13(1):47–70. DOI: <https://doi.org/10.2217/nmt-2021-0058>
159. Miclea A, Bagnoud M, Chan A, Hoepner R. A brief review of the effects of vitamin D on multiple sclerosis. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:781. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00781>

160. Simpson S Jr, Wang W, Otahal P, Blizzard L, van der Mei IAF, Taylor BV. Latitude continues to be significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: an updated meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. **2019**;90(11):1193–200. DOI: <https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-320189>
161. Vitkova M, Diouf I, Malpas C, Horakova D, Kubala Havrdova E, Patti F, Ozakbas S, Izquierdo G, et al. Association of latitude and exposure to ultraviolet B radiation with severity of multiple sclerosis: an international registry study. *neurology. Neurology*. **2022**;98(24):2401–12. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000200545>
162. Mey GM, Mahajan KR, DeSilva TM. Neurodegeneration in multiple sclerosis. *WIREs Mechanisms of Disease*. **2023**;15(1):e1583. DOI: <https://doi.org/10.1002/wsbm.1583>
163. Fox RJ, Cohen JA. Multiple sclerosis: the importance of early recognition and treatment. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. **2001**;68(2):157–71. DOI: <https://doi.org/10.3949/ccjm.68.2.157>
164. Ford H. Clinical presentation and diagnosis of multiple sclerosis. *Clinical Medicine journal – London*. **2020**;20(4):380–3. DOI: <https://doi.org/10.7861/clinmed.2020-0292>
165. Liu R, Du S, Zhao L, Jain S, Sahay K, Rizvanov A, Lezhnyova V, Khaibullin T, et al. Autoreactive lymphocytes in multiple sclerosis: pathogenesis and treatment target. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:996469. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.996469>
166. Frazzei G, van Vollenhoven RF, de Jong BA, Siegelaar SE, van Schaardenburg D. Preclinical autoimmune disease: a comparison of rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis and type 1 diabetes. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:899372. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.899372>
167. Hagan KA, Munger KL, Ascherio A, Grodstein F. Epidemiology of major neurodegenerative diseases in women: contribution of the nurses health study. *American Journal of Public Health*. **2016**;106(9):1650–5. DOI: <https://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303324>
168. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, Kuhle J, Mina MJ, Leng Y, Elledge SJ, Niebuhr DW, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-

- Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*. **2022**;375(6578):296–301. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abj8222>
169. Tettey P, Simpson S Jr, Taylor BV, van der Mei IA. The co-occurrence of multiple sclerosis and type 1 diabetes: shared aetiologic features and clinical implication for MS aetiology. *Journal of the Neurological Sciences*. **2015**;348(1–2):126–31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2014.11.019>
 170. Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J, Hemmer B, Ciccarelli O. Multiple sclerosis. *Lancet*. **2018**;391(10130):1622–36. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30481-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30481-1)
 171. Schreiner TG, Genes TM. Obesity and multiple sclerosis – a multifaceted association. *Journal of Clinical Medicine*. **2021**;10(12):2689. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10122689>
 172. Alfredsson L, Olsson T. Lifestyle and environmental factors in multiple sclerosis. *Cold Spring Harb erspectives in Medicine*. **2019**;9(4):a028944. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028944>
 173. Verma ND, Lam AD, Chiu C, Tran GT, Hall BM, Hodgkinson SJ. Multiple sclerosis patients have reduced resting and increased activated CD4+CD25+FOXP3+T regulatory cells. *Scientific Reports*. **2021**;11(1):10476. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88448-5>
 174. Rodi M, Dimisianos N, de Lastic AL, Sakellaraki P, Deraos G, Matsoukas J, Papathanasopoulos P, Mouzaki A. Regulatory cell populations in relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) patients: effect of disease activity and treatment regimens. *International Journal of Molecular Sciences*. **2016**;17(9):1398. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17091398>
 175. Ramaglia V, Sheikh-Mohamed S, Legg K, Park C, Rojas OL, Zandee S, Fu F, Ornatsky O, et al. Multiplexed imaging of immune cells in staged multiple sclerosis lesions by mass cytometry. *Elife*. **2019**;8:e48051. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.48051>
 176. Ahmed SM, Fransen NL, Touil H, Michailidou I, Huitinga I, Gommerman JL, Bar-Or A, Ramaglia V. Accumulation of meningeal lymphocytes correlates with white matter lesion activity in progressive multiple sclerosis. *JCI Insight*. **2022**;7(5):e151683. DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.151683>

177. Martinsen V, Kursula P. Multiple sclerosis and myelin basic protein: insights into protein disorder and disease. *Amino Acids*. **2022**;54(1):99–109. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-021-03111-7>
178. Ciccarelli O, Barkhof F, Bodini B, De Stefano N, Golay X, Nicolay K, Pelletier D, Pouwels PJ, et al. Pathogenesis of multiple sclerosis: insights from molecular and metabolic imaging. *Lancet Neurology*. **2014**;13(8):807–22. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70101-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70101-2)
179. Takeshita Y, Ransohoff RM. Inflammatory cell trafficking across the blood-brain barrier: chemokine regulation and in vitro models. *Immunological Reviews*. **2012**;248(1):228–39. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2012.01127.x>
180. Van Kaer L, Postoak JL, Wang C, Yang G, Wu L. Innate, innate-like and adaptive lymphocytes in the pathogenesis of MS and EAE. *Cellular & Molecular Immunology*. **2019**;16(6):531–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41423-019-0221-5>
181. Denic A, Wootla B, Rodriguez M. CD8(+) T cells in multiple sclerosis. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. **2013**;17(9):1053–66. DOI: <https://doi.org/10.1517/14728222.2013.815726>
182. Galli E, Hartmann FJ, Schreiner B, Ingelfinger F, Arvaniti E, Diebold M, Mrdjen D, van der Meer F, et al. GM-CSF and CXCR4 define a T helper cell signature in multiple sclerosis. *Nature Medicine*. **2019**;25(8):1290–300. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0521-4>
183. Chitnis T. The role of CD4 T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *International Review of Neurobiology*. **2007**;79:43–72. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(07\)79003-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(07)79003-7)
184. Wang J, Jelcic I, Muhlenbruch L, Haunerding V, Toussaint NC, Zhao Y, Cruciani C, Faigle W, et al. HLA-DR15 molecules jointly shape an autoreactive T cell repertoire in multiple sclerosis. *Cell*. **2020**;183(5):1264–81.e20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.054>
185. Ghalamfarsa G, Hojjat-Farsangi M, Mohammadnia-Afrouzi M, Anvari E, Farhadi S, Yousefi M, Jadidi-Niaragh F. Application of nanomedicine for crossing the blood-brain barrier: theranostic opportunities in multiple sclerosis. *Journal of Immunotoxicology*. **2016**;13(5):603–19. DOI: <https://doi.org/10.3109/1547691X.2016.1159264>

186. Elyaman W, Khoury SJ. Th9 cells in the pathogenesis of EAE and multiple sclerosis. *Seminars in Immunopathology*. **2017**;39(1):79–87. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0604-y>
187. Baharlou R, Khezri A, Razmkhah M, Habibagahi M, Hosseini A, Ghaderi A, Jaberipour M. Increased interleukin-17 transcripts in peripheral blood mononuclear cells, a link between T-helper 17 and proinflammatory responses in bladder cancer. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. **2015**;17(2):e9244. DOI: <https://doi.org/10.5812/ircmj.9244>
188. Larochelle C, Wasser B, Jamann H, Loffel JT, Cui QL, Tastet O, Schillner M, Luchtman D, et al. Pro-inflammatory T helper 17 directly harms oligodendrocytes in neuroinflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **2021**;118(34):e2025813118. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2025813118>
189. Schwab N, Schneider-Hohendorf T, Wiendl H. Therapeutic uses of anti- α 4-integrin (anti-VLA-4) antibodies in multiple sclerosis. *International Immunology*. **2015**;27(1):47–53. DOI: <https://doi.org/10.1093/intimm/dxu096>
190. Kinzel S, Weber MS. B Cell-directed therapeutics in multiple sclerosis: rationale and clinical evidence. *CNS Drugs*. **2016**;30(12):1137–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0396-6>
191. Batoulis H, Wunsch M, Birkenheier J, Rottlaender A, Gorboulev V, Kuerten S. Central nervous system infiltrates are characterized by features of ongoing B cell-related immune activity in MP4-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clinical Immunology*. **2015**;158(1):47–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.03.009>
192. Wagner CA, Roque PJ, Goverman JM. Pathogenic T cell cytokines in multiple sclerosis. *Journal of Experimental Medicine*. **2020**;217(1):e20190460. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.20190460>
193. Kunkl M, Frasca S, Amormino C, Volpe E, Tuosto L. T helper cells: the modulators of inflammation in multiple sclerosis. *Cells*. **2020**;9(2):482. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9020482>
194. Kisuya J, Chemtai A, Raballah E, Keter A, Ouma C. The diagnostic accuracy of Th1 (IFN- γ , TNF- α , and IL-2) and Th2 (IL-4, IL-6 and IL-10) cytokines response in AFB microscopy smear negative PTB – HIV co-infected patients.

- Scientific Reports*. **2019**;9(1):2966. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39048-x>
195. Frade-Barros AF, Ianni BM, Cabantous S, Pissetti CW, Saba B, Lin-Wang HT, Buck P, Marin-Neto JA, et al. Polymorphisms in genes affecting interferon- γ production and Th1 T cell differentiation are associated with progression to chagas disease cardiomyopathy. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:1386. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01386>
 196. Magliozzi R, Howell OW, Nicholas R, Cruciani C, Castellaro M, Romualdi C, Rossi S, Pitteri M, et al. Inflammatory intrathecal profiles and cortical damage in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. **2018**;83(4):739–55. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.25197>
 197. Wu X, Tian J, Wang S. Insight Into Non-Pathogenic Th17 Cells in Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*. **2018**;9:1112. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01112>
 198. Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, Preziosa P, Solari A, Vukusic S, Rocca MA. Multiple sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*. **2018**;4(1):43. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0041-4>
 199. Lassmann H. Pathogenic mechanisms associated with different clinical courses of multiple sclerosis. *Frontiers in Immunology*. **2019**;9:3116. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03116>
 200. Cunniffe N, Coles A. Promoting remyelination in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*. **2021**;268(1):30–44. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09421-x>
 201. Funfschilling U, Supplie LM, Mahad D, Boretius S, Saab AS, Edgar J, Brinkmann BG, Kassmann CM, et al. Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. *Nature*. **2012**;485(7399):517–21. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11007>
 202. Butler CA, Popescu AS, Kitchener EJA, Allendorf DH, Puigdellívol M, Brown GC. Microglial phagocytosis of neurons in neurodegeneration, and its regulation. *Journal of Neurochemistry*. **2021**;158(3):621–39. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.15327>
 203. Yang Y, Wang JZ. Nature of Tau-associated neurodegeneration and the molecular mechanisms. *Journal of Alzheimer's Disease*. **2018**;62(3):1305–17. DOI: <https://doi.org/10.3233/JAD-170788>

204. Galloway D, Phillips A, Owen D, Moore C. Phagocytosis in the brain: homeostasis and disease. *Frontiers in Immunology*. **2019**;10:790. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00790>
205. Brown G, Vilalta A. How microglia kill neurons. *Brain Research*. **2015**;1628:288–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.08.031>
206. Guerrero BL, Sicotte NL. Microglia in multiple sclerosis: friend or foe? *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:374. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00374>
207. Fischer MT, Sharma R, Lim JL, Haider L, Frischer JM, Drexhage J, Mahad D, Bradl M, et al. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury. *Brain*. **2012**;135(Pt. 3):886–99. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/aws012>
208. Lassmann H. Multiple sclerosis pathology. *CSH Perspectives in Medicine*. **2018**;8(3):a028936. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028936>
209. Storch MK, Bauer J, Linington C, Olsson T, Weissert R, Lassmann H. Cortical demyelination can be modeled in specific rat models of autoimmune encephalomyelitis and is major histocompatibility complex (MHC) haplotype-related. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. **2006**;65(12):1137–42. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000248547>
210. Fischer MT, Wimmer I, Hoftberger R, Gerlach S, Haider L, Zrzavy T, Hametner S, Mahad D, et al. Disease-specific molecular events in cortical multiple sclerosis lesions. *Brain*. **2013**;136(6):1799–815. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awt110>
211. Campbell GR, Ziabreva I, Reeve AK, Krishnan KJ, Reynolds R, Howell O, Lassmann H, Turnbull DM, et al. Mitochondrial DNA deletions and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. **2011**;69(3):481–92. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.22109>
212. Mahad DH, Trapp BD, Lassmann H. Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurology*. **2015**;14(2):183–93. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70256-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70256-X)
213. Stys PK, Zamponi GW, van Minnen J, Geurts JJ. Will the real multiple sclerosis please stand up? *Nature Reviews Neuroscience*. **2012**;13(7):507–14. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn3275>

214. Doshi A, Chataway J. Multiple sclerosis, a treatable disease. *Clinical Medicine journal – London*. **2016**;16(6):53–9. DOI: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-6-s53>
215. Scolding N, Barnes D, Cader S, Chataway J, Chaudhuri A, Coles A, Giovannoni G, Miller D, et al. Association of British Neurologists: revised (2015) guidelines for prescribing disease-modifying treatments in multiple sclerosis. *Practical Neurology*. **2015**;15(4):273–9. DOI: <https://doi.org/10.1136/practneurol-2015-001139>
216. Freeman L, Longbrake EE, Coyle PK, Hendin B, Vollmer T. High-efficacy therapies for treatment-naïve individuals with relapsing-remitting multiple sclerosis. *CNS Drugs*. **2022**;36(12):1285–99. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40263-022-00965-7>
217. Charabati M, Wheeler MA, Weiner HL, Quintana FJ. Multiple sclerosis: neuroimmune crosstalk and therapeutic targeting. *Cell*. **2023**;186(7):1309–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.008>
218. Yi J, Miller AT, Archambault AS, Jones AJ, Bradstreet TR, Bandla S, Hsu YS, Edelson BT, et al. Antigen-specific depletion of CD4⁺ T cells by CAR T cells reveals distinct roles of higher- and lower-affinity TCRs during autoimmunity. *Science Immunology*. **2022**;7(76):eabo0777. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abo0777>
219. Namini MS, Daneshimehr F, Beheshtizadeh N, Mansouri V, Ai J, Jahromi HK, Ebrahimi-Barough S. Cell-free therapy based on extracellular vesicles: a promising therapeutic strategy for peripheral nerve injury. *Stem Cell Research & Therapy*. **2023**;14(1):254. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03467-5>
220. Kidd GJ, Ohno N, Trapp BD. Biology of schwann cells. *Handbook of Clinical Neurology*. **2013**;115:55–79. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52902-2.00005-9>
221. Yi S, Yuan Y, Chen Q, Wang X, Gong L, Liu J, Gu X, Li S. Regulation of Schwann cell proliferation and migration by miR-1 targeting brain-derived neurotrophic factor after peripheral nerve injury. *Scientific Reports*. **2016**;6:29121. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep29121>
222. Lopez-Leal R, Diaz-Viraque F, Catalan RJ, Saquel C, Enright A, Iraola G, Court FA. Schwann cell reprogramming into repair cells increases miRNA-

- 21 expression in exosomes promoting axonal growth. *Journal of Cell Science*. **2020**;133(12):jcs239004. DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.239004>
223. De Gregorio C, Diaz P, Lopez-Leal R, Manque P, Court FA. Purification of exosomes from primary schwann cells, RNA extraction, and next-generation sequencing of exosomal RNAs. *Methods in Molecular Biology*. **2018**;1739:299–315. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7649-2_19
224. Hauser SL, Cree BAC. Treatment of multiple sclerosis: a review. *American The Journal of Medicine*. **2020**;133(12):1380–90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.05.049>
225. Sedel F, Papeix C, Bellanger A, Touitou V, Lebrun-Frenay C, Galanaud D, Gout O, Lyon-Caen O, et al. High doses of biotin in chronic progressive multiple sclerosis: a pilot study. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. **2015**;4(2):159–69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msard.2015.01.00>
226. Ferrari SM, Ragusa F, Elia G, Paparo SR, Mazzi V, Baldini E, Benvenga S, Antonelli A, et al. Precision medicine in autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. *Frontiers in Pharmacology*. **2021**;12:750380. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fphar.2021.750380>
227. Vargas-Uricoechea H. Molecular mechanisms in autoimmune thyroid Disease. *Cells*. **2023**;12(6):918. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells12060918>
228. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A, Fallahi P. Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmunity Reviews*. **2015**;14(2):174–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.10.016>
229. Ferrari SM, Fallahi P, Antonelli A, Benvenga S. Environmental issues in thyroid diseases. *Frontiers in Endocrinology*. **2017**;8:50. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00050>
230. Iddah MA, Macharia BN. Autoimmune thyroid disorders. *ISRN Endocrinology*. **2013**;2013:509764. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/509764>
231. Brix TH, Hegedus L. Twin studies as a model for exploring the aetiology of autoimmune thyroid disease. *Clinical Endocrinology*. **2012**;76(4):457–64. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2011.04318.x>
232. Huber A, Menconi F, Corathers S, Jacobson EM, Tomer Y. Joint genetic susceptibility to type 1 diabetes and autoimmune thyroiditis: from

- epidemiology to mechanisms. *Endocrine Reviews*. **2008**;29(6):697–725. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2008-0015>
233. Ferrari SM, Ruffilli I, Elia G, Ragusa F, Paparo SR, Patrizio A, Mazzi V, Antonelli A, Fallahi P. Chemokines in hyperthyroidism. *Journal of Clinical & Translational Endocrinology*. **2019**;16:100196. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcte.2019.100196>
 234. Benvenga S, Ferrari SM, Elia G, Ragusa F, Patrizio A, Paparo SR, Camastra S, Bonofiglio D, et al. Nutraceuticals in thyroidology: a review of in vitro, and in vivo animal studies. *Nutrients*. **2020**;12(5):1337. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12051337>
 235. Wang S, Wu Y, Zuo Z, Zhao Y, Wang K. The effect of vitamin D supplementation on thyroid autoantibody levels in the treatment of autoimmune thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Endocrine*. **2018**;59(3):499–505. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1532-5>
 236. Zhang HY, Teng XC, Shan ZY, Wang ZJ, Li CY, Yu XH, Mao JY, Wang WW, et al. Association between iron deficiency and prevalence of thyroid autoimmunity in pregnant and non-pregnant women of childbearing age: a cross-sectional study. *Chinese Medical Journal*. **2019**;132(18):2143–9. DOI: <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000409>
 237. Ashok T, Patni N, Fatima M, Lamis A, Siddiqui SW. Celiac disease and autoimmune thyroid disease: the two peas in a pod. *Cureus*. **2022**;14(6):e26243. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.26243>
 238. Desailoud R, Hober D. Viruses and thyroiditis: an update. *Virology Journal*. **2009**;6:5. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-5>
 239. Gong B, Wang C, Meng F, Wang H, Song B, Yang Y, Shan Z. Association between gut microbiota and autoimmune thyroid disease: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*. **2021**;12:774362. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.774362>
 240. Danzi S, Klein I. Amiodarone-induced thyroid dysfunction. *Journal of Intensive Care Medicine*. **2015**;30(4):179–85. DOI: <https://doi.org/10.1177/0885066613503278>
 241. Benvenga S, Antonelli A, Vita R. Thyroid nodules and thyroid autoimmunity in the context of environmental pollution. *Reviews in Endocrine and*

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11154-016-9327-6>

242. Luo Y, Kawashima A, Ishido Y, Yoshihara A, Oda K, Hiroi N, Ito T, Ishii N, et al. Iodine excess as an environmental risk factor for autoimmune thyroid disease. *International Journal of Molecular Sciences*. **2014**;15(7):12895–912. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms150712895>
243. Boguslawska J, Godlewska M, Gajda E, Piekietko-Witkowska A. Cellular and molecular basis of thyroid autoimmunity. *European Thyroid Journal*. **2022**;11(1):e210024. DOI: <https://doi.org/10.1530/ETJ-21-0024>
244. Guan H, de Morais NS, Stuart J, Ahmadi S, Marqusee E, Kim MI, Alexander EK. Discordance of serological and sonographic markers for Hashimoto's thyroiditis with gold standard histopathology. *European Journal of Endocrinology*. **2019**;181(5):539–44. DOI: <https://doi.org/10.1530/EJE-19-0424>
245. Weetman AP. An update on the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *Journal of Endocrinological Investigation*. **2021**;44(5):883–90. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01477-1>
246. Eleftheriadou AM, Mehl S, Renko K, Kasim RH, Schaefer JA, Minich WB, Schomburg L. Re-visiting autoimmunity to sodium-iodide symporter and pendrin in thyroid disease. *European Journal of Endocrinology*. **2020**;183(6):571–80. DOI: <https://doi.org/10.1530/EJE-20-0566>
247. Stassi G, De Maria R. Autoimmune thyroid disease: new models of cell death in autoimmunity. *Nature Reviews Immunology*. **2002**;2(3):195–204. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri750>
248. McLachlan SM, Rapoport B. Breaking tolerance to thyroid antigens: changing concepts in thyroid autoimmunity. *Endocrine Reviews*. **2014**;35(1):59–105. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2013-1055>
249. Vitti P, Hegedus L. eds. *Thyroid diseases: pathogenesis, diagnosis, and treatment*. Cham: Springer, **2018**. 763 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45013-1>
250. Pokhrel B, Bhusal K. Graves disease. In: StatPearls. Treasure Island: StatPearls Publishing; **2023**. PMID: 28846288.
251. Smit MJ, Verdijk P, van der Raaij-Helmer EM, Navis M, Hensbergen PJ, Leurs R, Tensen CP. CXCR3-mediated chemotaxis of human T cells is

- regulated by a Gi- and phospholipase C-dependent pathway and not via activation of MEK/p44/p42 MAPK nor Akt/PI-3 kinase. *Blood*. **2003** 15;102(6):1959–65. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2002-12-3945>
252. Liu C, Papewalis C, Domberg J, Scherbaum WA, Schott M. Chemokines and autoimmune thyroid diseases. *Hormone and Metabolic Research*. **2008**;40(6):361–8. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2008-1073153>
253. Antonelli A, Ferrari SM, Frascerra S, Galetta F, Franzoni F, Corrado A, Miccoli M, Benvenga S, et al. Circulating chemokine (CXC motif) ligand (CXCL)9 is increased in aggressive chronic autoimmune thyroiditis, in association with CXCL10. *Cytokine*. **2011**;55(2):288–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.04.022>
254. Romagnani P, Rotondi M, Lazzeri E, Lasagni L, Francalanci M, Buonamano A, Milani S, Vitti P, et al. Expression of IP-10/CXCL10 and MIG/CXCL9 in the thyroid and increased levels of IP-10/CXCL10 in the serum of patients with recent-onset Graves disease. *The American Journal of Pathology*. **2002**;161(1):195–206. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64171-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64171-5)
255. Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, Romagnani P, Ferrari SM, Barani L, Ferrannini E, Serio M. Increase of interferon-gamma-inducible CXC chemokine CXCL10 serum levels in patients with active Graves' disease, and modulation by methimazole therapy. *Clinical Endocrinology*. **2006**;64(2):189–95. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2006.02447.x>
256. Antonelli A, Rotondi M, Ferrari SM, Fallahi P, Romagnani P, Franceschini SS, Serio M, Ferrannini E. Interferon-gamma-inducible alpha-chemokine CXCL10 involvement in Graves ophthalmopathy: modulation by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. **2006**;91(2):614–20. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2005-1689>
257. Domberg J, Liu C, Papewalis C, Pflieger C, Xu K, Willenberg HS, Hermsen D, Scherbaum WA, et al. Circulating chemokines in patients with autoimmune thyroid diseases. *Hormone and Metabolic Research*. **2008**;40(6):416–21. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2008-1073151>
258. Garcia-Lopez MA, Sancho D, Sanchez-Madrid F, Marazuela M. Thyrocytes from autoimmune thyroid disorders produce the chemokines IP-10 and Mig and attract CXCR3+ lymphocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology &*

DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem.86.10.7953>

259. Antonelli A, Ferrari SM, Fallahi P, Frascerra S, Santini E, Franceschini SS, Ferrannini E. Monokine induced by interferon gamma (IFN γ) (CXCL9) and IFN γ inducible T-cell alpha-chemoattractant (CXCL11) involvement in Graves' disease and ophthalmopathy: modulation by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. **2009**;94(5):1803–9. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-2450>
260. Antonelli A, Ferrari SM, Frascerra S, Corrado A, Pupilli C, Bernini G, Benvenga S, Ferrannini E, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor α agonists modulate Th1 and Th2 chemokine secretion in normal thyrocytes and Graves disease. *Experimental Cell Research*. **2011**;317(11):1527–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.04.007>
261. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Ferrannini E, Fallahi P. Increase of interferon- γ inducible CXCL9 and CXCL11 serum levels in patients with active Graves disease and modulation by methimazole therapy. *Thyroid*. **2013**;23(11):1461–9. DOI: <https://doi.org/10.1089/thy.2012.0485>
262. Akahane M, Watanabe M, Inoue N, Miyahara Y, Arakawa Y, Inoue Y, Katsumata Y, Hidaka Y, et al Association of the polymorphisms of chemokine genes (IL8, RANTES, MIG, IP10, MCP1 and IL16) with the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity*. **2016**;49(5):312–9. DOI: <https://doi.org/10.3109/08916934.2015.1134507>
263. Li Y, Wang Z, Yu T, Chen B, Zhang J, Huang K, Huang Z. Increased expression of IJ1-37 in patients with Graves' disease and its contribution to suppression of proinflammatory cytokines production in peripheral blood mononuclear cells. *PLoS One*. **2014**;9(9):e107183. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107183>
264. Guan LJ, Wang X, Meng S, Shi LF, Jiang WJ, Xiao L, Shi XH, Xu J, et al. Increased IJ1-21/IJ1-21R expression and its proinflammatory effects in autoimmune thyroid disease. *Cytokine*. **2015**;72(2):160–5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.11.005>
265. Qi Y, Li X, Zhang Q, Huang F, Lin D, Zhou Y, Hong J, Cui B, Wang W, et al. Increased chemokine (C-C motif) ligand 21 expression and its correlation

- with osteopontin in Graves disease. *Endocrine*. **2015**;50(1):123–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12020-015-0552-7>
266. Jia H, Tao F, Liu C, Guo T, Zhu W, Wang S, Cui B, Ning G. Both interleukin-23A polymorphism and serum interleukin-23 expression are associated with Graves' disease risk. *Cellular Immunology*. **2015**;294(1):39–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2015.01.015>
 267. Imani D, Rezaei R, Razi B, Alizadeh S, Mahmoudi M. Association between IL6-174 G/C polymorphism and Graves disease: a systematic review and meta-analysis. *Acta Medica Iranica*. **2017**;55(11):665–71.
 268. Tu Y, Fan G, Zeng T, Cai X, Kong W. Association of TNF- α promoter polymorphism and Graves disease: an updated systematic review and meta-analysis. *Bioscience Reports*. **2018**;38(2):BSR20180143. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20180143>
 269. Frohlich E, Wahl R. Thyroid autoimmunity: role of anti-thyroid antibodies in thyroid and extra-thyroidal diseases. *Frontiers in Immunology*. **2017**;8:521. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00521>
 270. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology task force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation*. **1996**;93(5):841–2. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.cir.93.5.841>
 271. Kounis NG, Koniari I, Mplani V, Plotas P, Velissaris D. Hypersensitivity myocarditis and the pathogenetic conundrum of COVID-19 vaccine-related myocarditis. *Cardiology*. **2022**;147(4):413–5. DOI: <https://doi.org/10.1159/000524224>
 272. Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB, Fu M, Helio T, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *European Heart Journal*. **2013**;34(33):2636–48. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh210>
 273. Patriki D, Gresser E, Manka R, Emmert MY, Luscher TF, Heidecker B. Approximation of the incidence of myocarditis by systematic screening with

- cardiac magnetic resonance imaging. *JACC Heart Failure*. **2018**;6(7):573–9.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2018.03.002>
274. Heidecker B, Ruedi G, Baltensperger N, Gresser E, Kottwitz J, Berg J, Manka R, Landmesser U, et al. Systematic use of cardiac magnetic resonance imaging in MINOCA led to a five-fold increase in the detection rate of myocarditis: a retrospective study. *Swiss Medical Weekly*. **2019**;149:w20098.
DOI: <https://doi.org/10.4414/smw.2019.20098>
 275. Bruestle K, Hackner K, Kreye G, Heidecker B. Autoimmunity in acute myocarditis: how immunopathogenesis steers new directions for diagnosis and treatment. *Current Cardiology Reports*. **2020**;22(5):28.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11886-020-01278-1>
 276. Vdovenko D, Eriksson U. Regulatory role of CD4+ T cells in myocarditis. *Journal of Immunology Research*. **2018**;2018:4396351.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/4396351>
 277. Kovalenko VM, Nesukay EG, Cherniuk SV, Kozliuk AS, Kirichenko RM. Diagnosis and treatment of myocarditis. *Ukrainian Journal of Cardiology*. **2021**;28(3):67–88. <https://doi.org/10.31928/1608-635X-2021.3.6788>
 278. Kovalenko VM, Nesukay EG, Cherniuk SV, Polenova NS, Kirichenko RM, Giresh JJ, Titov EY, Kozliuk AS. Contemporary insight on myocarditis pathogenesis. *Ukrainian Journal of Cardiology*. **2020**;27(2):65–74.
<https://doi.org/10.31928/1608-635X-2020.2.6574>
 279. Bracamonte-Baran W, Cihakova D. Cardiac autoimmunity: myocarditis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **2017**;1003:187–221.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-57613-8_10
 280. Ekstrom K, Lehtonen J, Kandolin R, Raisanen-Sokolowski A, Salmenkivi K, Kupari M. Long-term outcome and its predictors in giant cell myocarditis. *European Journal of Heart Failure*. **2016**;18(12):1452–8.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ejhf.606>
 281. Heymans S, Eriksson U, Lehtonen J, Cooper LT Jr. The quest for new approaches in myocarditis and inflammatory cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. **2016**;68(21):2348–64.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.09.937>
 282. Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, Sleeper LA, Orav EJ, Clunie S, Messere J, Cox GF, et al. Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in

- children. *Journal of the American Medical Association*. **2006**;296(15):1867–76. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.296.15.1867>
283. Cooper LT Jr. Myocarditis. *The New England Journal of Medicine*. **2009**;360(15):1526–38. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra0800028>
 284. Mahrholdt H, Wagner A, Deluigi CC, Kispert E, Hager S, Meinhardt G, Vogelsberg H, Fritz P, et al. Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis. *Circulation*. **2006**;114(15):1581–90. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.606509>
 285. Blyszczuk P. Myocarditis in humans and in experimental animal models. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. **2019**;6:64. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00064>
 286. Pankuweit S, Klingel K. Viral myocarditis: from experimental models to molecular diagnosis in patients. *Heart Failure Reviews*. **2013**;18(6):683–702. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10741-012-9357-4>
 287. Kostic T, Momcilovic S, Perisic ZD, Apostolovic SR, Cvetkovic J, Jovanovic A, Barac A, Salinger-Martinovic et al. Manifestations of Lyme carditis. *International Journal of Cardiology*. **2017**;232:24–32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.12.169>
 288. Hidron A, Vogenthaler N, Santos-Preciado JJ, Rodriguez-Morales AJ, Franco-Paredes C, Rassi AJr. Cardiac involvement with parasitic infections. *Clinical Microbiology Reviews*. **2010**;23(2):324–49. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00054-09>
 289. Sagar S, Liu PP, Cooper LT Jr. Myocarditis. *Lancet*. **2012**;379(9817):738–47. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60648-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60648-X)
 290. Mahmood SS, Fradley MG, Cohen JV, Nohria A, Reynolds KL, Heinzerling LM, Sullivan RJ, Damrongwatanasuk R, et al. Myocarditis in patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Journal of the American College of Cardiology*. **2018**;71(16):1755–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.037>
 291. Grabie N, Lichtman AH, Padera R. T cell checkpoint regulators in the heart. *Cardiovascular Research*. **2019**;115(5):869–77. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz025>
 292. Caforio AL, Mahon NJ, Tona F, McKenna WJ. Circulating cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy and myocarditis: pathogenetic and

- clinical significance. *European Journal of Heart Failure*. **2002**;4(4):411–7. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1388-9842\(02\)00010-7](https://doi.org/10.1016/s1388-9842(02)00010-7)
293. Lovell JP, Cihakova D, Gilotra NA. COVID-19 and myocarditis: review of clinical presentations, pathogenesis and management. *Heart International*. **2022**;16(1):20–7. DOI: <https://doi.org/10.17925/HI.2022.16.1.20>
 294. Schultheiss HP, Baumeier C, Aleshcheva G, Bock CT, Escher F. Viral myocarditis – from pathophysiology to treatment. *Journal of Clinical Medicine*. **2021**;10(22):5240. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10225240>
 295. Monda E, Palmiero G, Rubino M, Verrillo F, Amodio F, Di Fraia F, Pacileo R, Fimiani F, et al. Molecular basis of inflammation in the pathogenesis of cardiomyopathies. *International Journal of Molecular Sciences*. **2020**;21(18):6462. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21186462>
 296. Ganguly D, Haak S, Sisirak V, Reizis B. The role of dendritic cells in autoimmunity. *Nature Reviews Immunology*. **2013**;13(8):566–77. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3477>
 297. Sonderegger I, Iezzi G, Maier R, Schmitz N, Kurrer M, Kopf M. GM-CSF mediates autoimmunity by enhancing IL-6-dependent Th17 cell development and survival. *Journal of Experimental Medicine*. **2008**;205(10):2281–94. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.20071119>
 298. Van der Borght K, Scott CL, Nindl V, Bouche A, Martens L, Sichien D, Van Moorleghe J, Vanheerswynghe M, et al. Myocardial infarction primes autoreactive T cells through activation of dendritic cells. *Cell Reports*. **2017**;18(12):3005–17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.02.079>
 299. Amoah BP, Yang H, Zhang P, Su Z, Xu H. Immunopathogenesis of myocarditis: the interplay between cardiac fibroblast cells, dendritic cells, macrophages and CD4⁺ T cells. *Scandinavian Journal of Immunology*. **2015**;82(1):1–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/sji.12298>
 300. Bautista JL, Lio CW, Lathrop SK, Forbush K, Liang Y, Luo J, Rudensky AY, Hsieh CS. Intracloonal competition limits the fate determination of regulatory T cells in the thymus. *Nature Immunology*. **2009**;10(6):610–7. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.1739>
 301. Hua X, Song J. Immune cell diversity contributes to the pathogenesis of myocarditis. *Heart Failure Reviews*. **2019**;24(6):1019–30. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10741-019-09799-w>

302. Hofmann U, Frantz S. Role of lymphocytes in myocardial injury, healing, and remodeling after myocardial infarction. *Circulation Research*. **2015**;116(2):354–67. DOI: <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.304072>
303. Gangaplara A, Massilamany C, Brown DM, Delhon G, Pattnaik AK, Chapman N, Rose N, Steffen D, et al. Coxsackievirus B3 infection leads to the generation of cardiac myosin heavy chain- α -reactive CD4 T cells in A/J mice. *Clinical Immunology*. **2012**;144(3):237–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.07.003>
304. Wang J, Han B. Dysregulated CD4⁺ T Cells and microRNAs in Myocarditis. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:539. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00539>
305. Ivanova EA, Orekhov AN. T helper lymphocyte subsets and plasticity in autoimmunity and cancer: an overview. *BioMed Research International*. **2015**;2015:327470. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/327470>
306. Wang Y, Tian Q, Ye L. The differentiation and maintenance of SARS-CoV-2-specific follicular helper T cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. **2022**;12:953022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.953022>
307. Gagliani N, Huber S. Basic aspects of T helper cell differentiation. *Methods in Molecular Biology*. **2017**;1514:19–30. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6548-9_2
308. Chen X, Zeng XH, Wang M, Chen L, Zhang N, Rao M, Yang PC, Song J. Bcl2-Like protein 12 is required for the aberrant T helper-2 polarization in the heart by enhancing interleukin-4 expression and compromising apoptotic machinery in CD4⁺ T cells. *Circulation*. **2018**;138(22):2559–68. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033890>
309. Hennessy EJ, Moore KJ. Using microRNA as an alternative treatment for hyperlipidemia and cardiovascular disease: cardio-miRs in the pipeline. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. **2013**;62(3):247–54. DOI: <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e31829d48bf>
310. Anders HJ, Kitching AR, Leung N, Romagnani P. Glomerulonephritis: immunopathogenesis and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. **2023**;23(7):453–71. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00816-y>

311. Guo Q, Wu S, Xu C, Wang J, Chen J. Global disease burden from acute glomerulonephritis 1990–2019. *Kidney International Reports*. **2021**;6(8):2212–17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2021.04.038>
312. Issa W, Njeim R, Carrazco A, Burke GW, Mitrofanova A. Role of the innate immune response in glomerular disease pathogenesis: focus on podocytes. *Cells*. **2024**;13(13):1157. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13131157>
313. Dantas M, Silva LBB, Pontes BTM, Dos Reis MA, de Lima PSN, Moysés Neto M. Membranous nephropathy. *Brazilian Journal of Nephrology*. **2023**;45(2):229–43. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2023-0046en>
314. Ma H, Sandor DG, Beck LH Jr. The role of complement in membranous nephropathy. *Seminars in Nephrology*. **2013**;33(6):531–42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2013.08.004>
315. Mellors RC, Ortega LG. Analytical pathology. III. New observations on the pathogenesis of glomerulonephritis, lipid nephrosis, periarteritis nodosa, and secondary amyloidosis in man. *The American Journal of Pathology*. **1956**;32(3):455–99.
316. McGrogan A, Franssen CF, de Vries CS. The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **2011**;26(2):414–30. DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq665>
317. Bobart SA, Tehranian S, Sethi S, Alexander MP, Nasr SH, Moura Marta C, Vrana JA, Said S, et al. A target antigen-based approach to the classification of membranous nephropathy. *Mayo Clinic Proceedings*. **2021**;96(3):577–91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.11.028>
318. Akiyama S, Imai E, Maruyama S. Immunology of membranous nephropathy. *F1000Res*. **2019**;8:734. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.17589.1>
319. Heymann W, Kmetec EP, Wilson SG, Hunter JL, Hackel DB, Okuda R, Cuppage F. Experimental autoimmune renal disease in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **1965**;124(1):310–22. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb18966.x>

320. Semenikhina M, Stefanenko M, Spires DR, Ilatovskaya DV, Palygin O. Nitric-Oxide-mediated signaling in podocyte pathophysiology. *Biomolecules*. **2022**;12(6):745. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom12060745>
321. Kwiatkowska E, Stefańska K, Zieliński M, Sakowska J, Jankowiak M, Trzonkowski P, Marek-Trzonkowska N, Kwiatkowski S. Podocytes-The Most Vulnerable Renal Cells in Preeclampsia. *International Journal of Molecular Sciences*. **2020**;21(14):5051. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21145051>
322. Lv X, Wang J, Zhang L, Shao X, Lin Y, Liu H, Ma G, Li J, et al. Canagliflozin reverses Th1/Th2 imbalance and promotes podocyte autophagy in rats with membranous nephropathy. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:993869. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.993869>
323. Cybulsky AV, Quigg RJ, Salant DJ. Experimental membranous nephropathy redux. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. **2005**;289(4):660–71. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00437.2004>
324. Liu W, Gao C, Liu Z, Dai H, Feng Z, Dong Z, Zheng Y, Gao Y, et al. Idiopathic membranous nephropathy: glomerular pathological pattern caused by extrarenal immunity activity. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:1846. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01846>
325. Sethi S. New antigens in membranous nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. **2021**;32(2):268–78. DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2020071082>
326. Sethi S, Beck LH Jr, Glassock RJ, Haas M, De Vriese AS, Caza TN, Hoxha E, Lambeau G, et al. Mayo Clinic consensus report on membranous nephropathy: proposal for a novel classification. *Kidney International*. **2023**;104(6):1092–102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.06.032>
327. Debiec H, Guignonis V, Mougenot B, Decobert F, Haymann JP, Bensman A, Deschênes G, Ronco PM. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *The New England Journal of Medicine*. **2002**;346(26):2053–60. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012895>
328. Ronco P, Debiec H, Guignonis V. Mechanisms of disease: alloimmunization in renal diseases. *Nature Clinical Practice Nephrology*. **2006**;2(7):388–97. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncpneph0198>

329. Beck LH Jr. PLA2R and THSD7A: disparate paths to the same disease? *Journal of the American Society of Nephrology*. **2017**;28(9):2579–89. DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2017020178>
330. East L, Isacke CM. The mannose receptor family. *Biochimica et Biophysica Acta*. **2002**;1572(2–3):364–86. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(02\)00319-7](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(02)00319-7)
331. Ancian P, Lambeau G, Mattéi MG, Lazdunski M. The human 180-kDa receptor for secretory phospholipases A2. Molecular cloning, identification of a secreted soluble form, expression, and chromosomal localization. *Journal of Biological Chemistry*. **1995**;270(15):8963–70. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.270.15.8963>
332. Tomas NM, Beck LH Jr, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, Dolla G, Hoxha E, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *The New England Journal of Medicine*. **2014**;371(24):2277–87. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409354>
333. Salant DJ. Unmet challenges in membranous nephropathy. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. **2019**;28(1):70–76. DOI: <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000459>
334. Francis JM, Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: a journey from bench to bedside. *American Journal of Kidney Diseases*. **2016**;68(1):138–47. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2016.01.030>
335. Ju W, Greene CS, Eichinger F, Nair V, Hodgins JB, Bitzer M, Lee YS, Zhu Q, et al. Defining cell-type specificity at the transcriptional level in human disease. *Genome Research*. **2013**;23(11):1862–73. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.155697.113>
336. Kistler AD, Salant DJ. Complement activation and effector pathways in membranous nephropathy. *Kidney International*. **2024**;105(3):473–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.10.035>
337. Fujigaki Y, Nagase M, Honda N. Intraglomerular basement membrane translocation of immune complex (IC) in the development of passive in situ IC nephritis of rats. *The American Journal of Pathology*. **1993**;142(3):831–42.

338. Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: from models to man. *The Journal of Clinical Investigation*. **2014**;124(6):2307–14. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI72270>
339. Baker PJ, Ochi RF, Schulze M, Johnson RJ, Campbell C, Couser WG. Depletion of C6 prevents development of proteinuria in experimental membranous nephropathy in rats. *The American Journal of Pathology*. **1989**;135(1):185–94.
340. Lv X, Wang J, Zhang L, Shao X, Lin Y, Liu H, Ma G, Li J, et al. Canagliflozin reverses Th1/Th2 imbalance and promotes podocyte autophagy in rats with membranous nephropathy. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:993869. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.993869>
341. Motavalli R, Etemadi J, Soltani-Zangbar MS, Ardalan MR, Kahroba H, Roshangar L, Nouri M, Aghebati-Maleki L, et al. Altered Th17/Treg ratio as a possible mechanism in pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy. *Cytokine*. **2021**;141:155452. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155452>
342. Zhao Q, Dai H, Liu X, Jiang H, Liu W, Feng Z, Zhang N, Gao Y, et al. Helper T cells in idiopathic membranous nephropathy. *Frontiers in Immunology*. **2021**;12:665629. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.665629>
343. Li H, Wu H, Guo Q, Yu H, Xu Y, Yu J, Wang Z, Yi H. Myeloid-derived suppressor cells promote the progression of primary membranous nephropathy by enhancing Th17 response. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:1777. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01777>
344. Cremoni M, Brglez V, Perez S, Decoupigny F, Zorzi K, Andreani M, Gerard A, Boyer-Suavet S, et al. Th17-immune response in patients with membranous nephropathy is associated with thrombosis and relapses. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:574997. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.574997>
345. Kuroki A, Iyoda M, Shibata T, Sugisaki T. Th2 cytokines increase and stimulate B cells to produce IgG4 in idiopathic membranous nephropathy. *Kidney International*. **2005**;68(1):302–10. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00415.x>
346. Rosenzweig M, Languille E, Debiec H, Hygino J, Dahan K, Simon T, Klatzmann D, Ronco P. B- and T-cell subpopulations in patients with severe

- idiopathic membranous nephropathy may predict an early response to rituximab. *Kidney International*. **2017**;92(1):227–37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.01.012>
347. Masutani K, Taniguchi M, Nakashima H, Yotsueda H, Kudoh Y, Tsuruya K, Tokumoto M, Fukuda K, et al. Up-regulated interleukin-4 production by peripheral T-helper cells in idiopathic membranous nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **2004**;19(3):580–6. DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfg572>
 348. Qi YY, Zhou XJ, Cheng FJ, Hou P, Ren YL, Wang SX, Zhao MH, Yang L, et al. Increased autophagy is cytoprotective against podocyte injury induced by antibody and interferon- α in lupus nephritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2018**;77(12):1799–809. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213028>
 349. Zhou XJ, Klionsky DJ, Zhang H. Podocytes and autophagy: a potential therapeutic target in lupus nephritis. *Autophagy*. **2019**;15(5):908–12. DOI: <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1580512>
 350. Sinico RA, Mezzina N, Trezzi B, Ghiggeri GM, Radice A. Immunology of membranous nephropathy: from animal models to humans. *Clinical and Experimental Immunology*. **2016**;183(2):157–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/cei.12729>
 351. Fasano R, Malerba E, Prete M, Solimando AG, Buonavoglia A, Silvestris N, Leone P, Racanelli V. Impact of antigen presentation mechanisms on immune response in autoimmune hepatitis. *Frontiers in Immunology*. **2022**;12:814155. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2021.814155>
 352. Christen U, Hintermann E. Animal models for autoimmune hepatitis: are current models good enough? *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:898615. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2022.898615>
 353. Komori A. Recent updates on the management of autoimmune hepatitis. *Clinical and Molecular Hepatology*. **2021**;27(1):58–69. DOI: <http://doi.org/10.3350/cmh.2020.0189>
 354. Poddighe D, Maulenkul T, Zhubanova G, Akhmaltdinova L, Dossybayeva K. Natural Killer T (NKT) Cells in autoimmune hepatitis: current evidence from basic and clinical research. *Cells*. **2023**;12(24):2854. DOI: <http://doi.org/10.3390/cells12242854>

355. Mieli-Vergani G, Vergani D, Czaja AJ, Manns MP, Krawitt EL, Vierling JM, Lohse AW, Montano-Loza AJ. Autoimmune hepatitis. *Nature Reviews Disease Primers*. **2018**;4:18017. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrdp.2018.17>
356. Mroskowiak A, Suleja A, Stec M, Kuczmik W, Migacz M, Holecki M. Autoimmune hepatitis-challenging diagnosis. *Medicina (Kaunas)*. **2022**;58(7):896. DOI: <http://doi.org/10.3390/medicina58070896>
357. Lv T, Li M, Zeng N, Zhang J, Li S, Chen S, Zhang C, Shan S, et al. Systematic review and meta-analysis on the incidence and prevalence of autoimmune hepatitis in Asian, European, and American population. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. **2019**;34(10):1676–1684. DOI: <http://doi.org/10.1111/jgh.14746>
358. Mackay IR. Historical reflections on autoimmune hepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. **2008**;14(21):3292–300. DOI: <http://doi.org/10.3748/wjg.14.3292>
359. Mackay IR, Cowling DC, Taft LI. Lupoid hepatitis. *Lancet*. **1956**;271(6957):1323–6. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0140-6736\(56\)91483-0](http://doi.org/10.1016/s0140-6736(56)91483-0)
360. Mackay IR, Weiden S, Hasker J. Autoimmune hepatitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **1965**;124(2):767–80. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb19000.x>
361. Horst AK, Neumann K, Diehl L, Tiegs G. Modulation of liver tolerance by conventional and nonconventional antigen-presenting cells and regulatory immune cells. *Cellular & Molecular Immunology*. **2016**;13(3):277–92. DOI: <http://doi.org/10.1038/cmi.2015.112>
362. Shiffman ML. Autoimmune hepatitis: epidemiology, subtypes, and presentation. *Clinical Liver Disease*. **2024**;28(1):1–14. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cld.2023.06.002>
363. Thomson AW, Knolle PA. Antigen-presenting cell function in the tolerogenic liver environment. *Nature Reviews Immunology*. **2010**;10(11):753–66. DOI: <http://doi.org/10.1038/nri2858>
364. Parker GA, Picut CA. Immune functioning in non lymphoid organs: the liver. *Toxicologic Pathology*. **2012**;40(2):237–47. DOI: <http://doi.org/10.1177/0192623311428475>

365. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis. *Cellular & Molecular Immunology*. **2022**;19(2):158–176. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41423-021-00768-8>
366. Zhao L, Tang Y, You Z, Wang Q, Liang S, Han X, Qiu D, Wei J, et al. Interleukin-17 contributes to the pathogenesis of autoimmune hepatitis through inducing hepatic interleukin-6 expression. *PLoS One*. **2011**;6(4):e18909. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0018909>
367. Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Regulatory T cells in autoimmune hepatitis: an updated overview. *Journal of Autoimmunity*. **2021**;119:102619. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jaut.2021.102619>
368. Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, Tanaka A, Ichiyama K, Ohkura N. Regulatory T Cells and Human Disease. *Annual Review of Immunology*. **2020**;38:541–566. DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041717>
369. Longhi MS, Ma Y, Bogdanos DP, Cheeseman P, Mieli-Vergani G, Vergani D. Impairment of CD4(+)CD25(+) regulatory T-cells in autoimmune liver disease. *Journal of Hepatology*. **2004**;41(1):31–7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.03.008>
370. Liberal R, Grant CR, Holder BS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. The impaired immune regulation of autoimmune hepatitis is linked to a defective galectin-9/tim-3 pathway. *Hepatology*. **2012**;56(2):677–86. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.25682>
371. Liberal R, Grant CR, Holder BS, Cardone J, Martinez-Llordella M, Ma Y, Heneghan MA, Mieli-Vergani G, et al. In autoimmune hepatitis type 1 or the autoimmune hepatitis-sclerosing cholangitis variant defective regulatory T-cell responsiveness to IL-2 results in low IL-10 production and impaired suppression. *Hepatology*. **2015**;62(3):863–75. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.27884>
372. Wang H, Feng X, Yan W, Tian D. Regulatory T Cells in autoimmune hepatitis: unveiling their roles in mouse models and patients. *Frontiers in Immunology*. **2020**;11:575572. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2020.575572>
373. Grant CR, Liberal R, Holder BS, Cardone J, Ma Y, Robson SC, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. Dysfunctional CD39(POS) regulatory T cells and aberrant

- control of T-helper type 17 cells in autoimmune hepatitis. *Hepatology*. **2014**;59(3):1007–15. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.26583>
374. Liberal R, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. **2011**;25(6):653–64. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bpg.2011.09.009>
375. Krueger PD, Lassen MG, Qiao H, Hahn YS. Regulation of NK cell repertoire and function in the liver. *Critical Reviews in Immunology*. **2011**;31(1):43–52. DOI: <http://doi.org/10.1615/critrevimmunol.v31.i1.40>
376. Notas G, Kisseleva T, Brenner D. NK and NKT cells in liver injury and fibrosis. *Clinical Immunology*. **2009**;130(1):16–26. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.clim.2008.08.008>
377. Rosenzweig M, Lorenzon R, Cacoub P, Pham HP, Pitoiset F, El Soufi K, Riebet C, Bernard C, et al. Immunological and clinical effects of low-dose interleukin-2 across 11 autoimmune diseases in a single, open clinical trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2019**;78(2):209–217. DOI: <http://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-214229>
378. Longhi MS, Hussain MJ, Kwok WW, Mieli-Vergani G, Ma Y, Vergani D. Autoantigen-specific regulatory T cells, a potential tool for immune-tolerance reconstitution in type-2 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. **2011**;53(2):536–47. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.24039>
379. Ambrogini E, Que X, Wang S, Yamaguchi F, Weinstein RS, Tsimikas S, Manolagas SC, Witztum JL, et al. Oxidation-specific epitopes restrain bone formation. *Nature Communications*. **2018**;9(1):2193. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04047-5>
380. Subramanian N, Torabi-Parizi P, Gottschalk RA, Germain RN, Dutta B. Network representations of immune system complexity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*. **2015**;7(1):13–38. DOI: <https://doi.org/10.1002/wsbm.1288>
381. Біловол ОМ, Князькова ІІ. Сучасні імуномодулятори для клінічного застосування. *Внутрішня медицина*. **2008**;2(8):6–15.
382. Корсунська ОІ, Нефьодов ОО. Імунотропні препарати у роботі лікаря загальної практики. *Фармакотерапевтичний довідник*. Дніпро: «Літограф», **2015**. 203 с.

383. Біловол ОМ, Кравчун ПГ, Бабаджан ВД, Кузнецова ЛВ, Циганенко АЯ, Ольховський ДВ, Кожин МІ, Сидоров ОП, та ін. Клінічна імунологія та алергологія. Харків: «Гриф», **2011**. 550 с.
384. Bizunok NA, Rashkevich OS, Volynets BA, Kryuchok VG. Immunotropic (immunomodulatory) drugs, BSMU, 2021. 56 p.
385. Asherson RA, Gunter K, Daya D, Shoenfeld Y. Multiple autoimmune diseases in a young woman: tuberculosis and splenectomy as possible triggering factors? Another example of the "mosaic" of autoimmunity. *The Journal of Rheumatology*. **2008**;35(6):1224–6.
386. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: oral and systemic adverse effects. *Medicina Oral, Patologia Oral, Cirugia Bucal*. **2014**;19(1):24–31. DOI: <https://doi.org/10.4317/medoral.19087>
387. Lee SJ, Chinen J, Kavanaugh A. Immunomodulator therapy: monoclonal antibodies, fusion proteins, cytokines, and immunoglobulins. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. **2010**;125(2):314–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.08.018>
388. Ashraf H, Solla P, Sechi LA. Current advancement of immunomodulatory drugs as potential pharmacotherapies for autoimmunity based neurological diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*. **2022**;15(9):1077. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15091077>
389. Serra P, Santamaria P. Nanoparticle-based approaches to immune tolerance for the treatment of autoimmune diseases. *European Journal of Immunology*. **2018**;48(5):751–6. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.201747059>
390. Agmon-Levin N, Theodor E, Segal RM, Shoenfeld Y. Vitamin D in systemic and organ-specific autoimmune diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. **2013**;45(2):256–66. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12016-012-8342-y>
391. Cardenas-Roldan J, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. How do autoimmune diseases cluster in families? A systematic review and meta-analysis. *BioMed Central*. **2013**;11:73. DOI: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-73>
392. Marks KE, Rao DA. T peripheral helper cells in autoimmune diseases. *Immunological Reviews*. **2022**;307(1):191–202. DOI: <https://doi.org/10.1111/imr.13069>

393. Zhou SY, Zhang C, Shu WJ, Chong LY, He J, Xu Z, Pan HF. Emerging roles of coronavirus in autoimmune diseases. *Archives of Medical Research*. **2021**;52(7):665-672. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2021.03.012>
394. Ghobadinezhad F, Ebrahimi N, Mozaffari F, Moradi N, Beiranvand S, Pournazari M, Rezaei-Tazangi F, Khorram R, et al. The emerging role of regulatory cell-based therapy in autoimmune disease. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:1075813. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1075813>
395. Serra P, Santamaria P. Antigen-specific therapeutic approaches for autoimmunity. *Nature Biotechnology*. **2019**;37(3):238–51. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0015-4>
396. Eggenhuizen PJ, Ng BH, Ooi JD. Treg enhancing therapies to treat autoimmune diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. **2020**;21(19):7015. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21197015>
397. Navarra SV, Guzman RM, Gallacher AE, Hall S, Levy RA, Jimenez RE, Li EK, Thomas M, et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. **2011**;377(9767):721–31. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61354-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61354-2)
398. Gottenberg JE, Guillevin L, Lambotte O, Combe B, Allanore Y, Cantagrel A, Larroche C, Soubrier M, et al. Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2005**;64(6):913–20. DOI: <https://doi.org/10.1136/ard.2004.029694>
399. Raposo B, Merky P, Lundqvist C, Yamada H, Urbonaviciute V, Niaudet C, Viljanen J, Kihlberg J, et al. T cells specific for post-translational modifications escape intrathymic tolerance induction. *Nature Communications*. **2018**;9(1):353. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02763-y>
400. Tipton AJ, Sullivan JC. Sex differences in T cells in hypertension. *Clinical Therapeutics*. **2014**;36(12):1882–900. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2014.07.011>
401. Lori A, Perrotta M, Lembo G, Carnevale D. The spleen: a hub connecting nervous and immune systems in cardiovascular and metabolic diseases.

- International Journal of Molecular Sciences*. **2017**;18(6):1216.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18061216>
402. Baradaran M, Jalali A, Naderi Soorki M, Galehdari H. A Novel defensin-like peptide associated with two other new cationic antimicrobial peptides in transcriptome of the Iranian scorpion venom. *Iranian Biomedical Journal*. **2017**;21(3):190–6. DOI: <https://doi.org/10.18869/acadpub.ijb.21.3.190>
403. Zinchenko AV, Bobrova EN, Govorova YS, Rozanova ED, Karpenko VG. Effect of low temperature storage of human placenta on phase transitions in fractions of placental extracts and in mixtures of the fractions with cells. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*, **2015**;25(2):122–30. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.02.122>
404. Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Чиж МО. Кріоекстракт плаценти – перший український біотехнологічний противиразкових засіб (огляд літератури та власних досліджень). *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2023**;1(10):32–40. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-1-4>
405. Gwam C, Ohanele C, Hamby J, Chughtai N, Mufti Z, Ma X. Human placental extract: a potential therapeutic in treating osteoarthritis. *Annals of Translational Medicine*. **2023**;11(9):322. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm.2019.10.20>
406. Pogozhykh O, Prokopyuk V, Figueiredo C, Pogozhykh D. Placenta and placental derivatives in regenerative therapies: experimental studies, history, and prospects. *Stem Cells International*. **2018**;2018:4837930. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/4837930>
407. Chen SJ, Liu YL, Sytwu HK. Immunologic regulation in pregnancy: from mechanism to therapeutic strategy for immunomodulation. *Clinical and Developmental Immunology*. **2012**;2012:258391. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/258391>
408. Kanellopoulos-Langevin C, Caucheteux SM, Verbeke P, Ojcius DM. Tolerance of the fetus by the maternal immune system: role of inflammatory mediators at the feto-maternal interface. *Reproductive Biology and Endocrinology*. **2003**;1:121. DOI: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-121>

409. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Human Reproduction Update*. **2003**;9(4):347–57. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmg026>
410. Гладких ФВ. Противиразкова активність кріоекстракту плаценти при експериментальному індометацин-індукованому ульцерогенезі. *Львівський медичний часопис*. **2021**;27(3–4):67–82. DOI: <https://doi.org/10.25040/aml2021.3-4.067>
411. Hryshchenko NG, Hryshchenko VI, Smolyaninova EI, Chernyshenko LG, Volkova NA. Effect of placenta cryoextract on induction of superovulation in laboratory mice with chronic ovarian inflammation. *Problems of cryobiology*. **2010**;20(3):327–37.
412. Kim MJ, Shin KS, Jeon JH, Lee DR, Shim SH, Kim JK, Cha DH, Yoon TK, et al. Human chorionic-plate-derived mesenchymal stem cells and Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: a comparative analysis of their potential as placenta-derived stem cells. *Cell and Tissue Research*. **2011**;346(1):53–64. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00441-011-1249-8>
413. Yang ZX, Han ZB, Ji YR, Wang YW, Liang L, Chi Y, Yang SG, Li LN, et al. CD106 identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells with unique immunomodulatory properties. *PLoS One*. **2013**;8(3):e59354. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059354>
414. Abumaree MH, Abomaray FM, Alshabibi MA, AlAskar AS, Kalionis B. Immunomodulatory properties of human placental mesenchymal stem/stromal cells. *Placenta*. **2017**;59:87-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2017.04.003>
415. Munoz-Fernandez R, Prados A, Leno-Duran E, Blazquez A, Garcia-Fernandez JR, Ortiz-Ferron G, Olivares EG. Human decidual stromal cells secrete C-X-C motif chemokine 13, express B cell-activating factor and rescue B lymphocytes from apoptosis: distinctive characteristics of follicular dendritic cells. *Human Reproduction*. **2012**;27(9):2775–84. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/des198>
416. Abumaree MH, Al Jumah MA, Kalionis B, Jawdat D, Al Khaldi A, Abomaray FM, Fatani AS, Chamley LW, et al. Human placental mesenchymal stem cells (pMSCs) play a role as immune suppressive cells by shifting macrophage differentiation from inflammatory M1 to anti-inflammatory M2 macrophages.

- Stem Cell Reviews and Reports.* **2013**;9(5):620-41.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-013-9455-2>
417. Magatti M, De Munari S, Vertua E, Nassauto C, Albertini A, Wengler GS, Parolini O. Amniotic mesenchymal tissue cells inhibit dendritic cell differentiation of peripheral blood and amnion resident monocytes. *Cell Transplantation.* **2009**;18(8):899–914.
DOI: <https://doi.org/10.3727/096368909X471314>
 418. Liu W, Morschauser A, Zhang X, Lu X, Gleason J, He S, Chen HJ, Jankovic V, et al. Human placenta-derived adherent cells induce tolerogenic immune responses. *Clinical & Translational Immunology.* **2014**;3(5):e14.
DOI: <https://doi.org/10.1038/cti.2014.5>
 419. Mayer L, Pandak WM, Melmed GY, Hanauer SB, Johnson K, Payne D, Faleck H, Hariri RJ, et al. Safety and tolerability of human placenta-derived cells (PDA001) in treatment-resistant crohn's disease: a phase 1 study. *Inflammatory Bowel Diseases.* **2013**;19(4):754–60.
DOI: <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e31827f27df>
 420. Shehadah A, Chen J, Pal A, He S, Zeitlin A, Cui X, Zacharek A, Cui Y, et al. Human placenta-derived adherent cell treatment of experimental stroke promotes functional recovery after stroke in young adult and older rats. *PLoS One.* **2014**;9(1):e86621. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086621>
 421. Whitley GS, Cartwright JE. Trophoblast-mediated spiral artery remodelling: a role for apoptosis. *Journal of Anatomy.* **2009**;215(1):21–6.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.01039.x>
 422. Chandanwale A, Langade D, Mohod V, Sinha S, Ramteke A, Bakhshi GD, Motwani M. Comparative evaluation of human placental extract for its healing potential in surgical wounds after orthopaedic surgery: an open, randomised, comparative study. *Journal of Indian Medical Association.* **2008**;106(6):405–8.
 423. Shukla VK, Rasheed MA, Kumar M, Gupta SK, Pandey SS. A trial to determine the role of placental extract in the treatment of chronic non-healing wounds. *Journal of Wound Care.* **2004**;13(5):177–9.
DOI: <https://doi.org/10.12968/jowc.2004.13.5.26668>
 424. Park JY, Lee J, Jeong M, Min S, Kim SY, Lee H, Lim Y, Park HJ. Effect of Hominis Placenta on cutaneous wound healing in normal and diabetic mice.

- Nutrition Research and Practice.* **2014**;8(4):404–9.
DOI: <https://doi.org/10.4162/nrp.2014.8.4.404>
425. Park SY, Phark S, Lee M, Lim JY, Sul D. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of placental extracts in benzo[a]pyrene-exposed rats. *Placenta.* **2010**;31(10):873–9.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.07.010>
426. Kawakatsu M, Urata Y, Goto S, Ono Y, Li TS. Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity. *Journal of Radiation Research.* **2013**;54(2):268–76.
DOI: <https://doi.org/10.1093/jrr/rrs105>
427. Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Чиж МО. Сучасні підходи до лікування виразкової хвороби шлунка та перспективи використання засобів біологічної терапії. *Сучасні медичні технології.* **2023**;2(57):58–66.
DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.2\(57\).2023.10](https://doi.org/10.34287/MMT.2(57).2023.10)
428. Кошурба ІВ. Противиразковий та гепатозахисний ефекти кріоекстракту плаценти (експериментальне дослідження). *Дисертація PhD: спец. 222 – Медицина, Харків, 2024.* 235 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0825U000047/>
429. Шепітько КВ. Дослідження ступеня зв'язування лектинів у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини у щурів. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.* **2015**;14(1):57–61.
430. Шепітько КВ. Характеристика гемомікроциркуляторного русла слизової оболонки дванадцятипалої кишки при трансплантації кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини у щурів. *Світ медицини та біології.* **2015**;2(49):151–5.
431. Білаш СМ. Особливості лектиноспецифічності структурних компонентів кардіальної частини шлунку після введення кріоконсервованої плаценти на тлі гострого експериментального запалення. *Світ біології та медицини.* **2014**;2(44):97–100.
432. Gulida MO, Myroshnychenko EB, Berezka HI, Garyachy EB. Use of placenta extract in complex treatment of patients with rheumatoid arthritis. *Experimental and clinical medicine.* **2014**;1(62):168–71.

433. Капустянська АА. Застосування препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» в комплексному лікуванні загострення подагричного артриту з метаболічним артритом. Актуальні проблеми сучасної медицини: *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. **2010**;10(30):54–8.
434. Грищенко МГ, Грищенко ВІ, Смолянінова ЕІ, Чернищенко ЛГ, Волкова НО. Вплив кріоекстракту плаценти на індукцію суперовуляції у лабораторних мишей х хронічним запаленням яєчників. *Проблеми кріобіології*. **2010**;20(3):327–37.
435. Lutsenko NS, Prokopyuk OS, Bondarenko IA, Geraskina LR, Evtareva IA. Use of cryopreserved placental tissue in isoimmunization of pregnant women. *Problems of cryobiology*. **2008**;18(3):316–8.
436. Прокопюк ВЮ, Трифонов ВЮ, Прокопюк ОС, Черемський АК, Зуб ЛІ. Клінічна ефективність прегравідарної підготовки жінок з антифосфоліпідним синдромом. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. **2011**;(2):78–81.
437. Лахно ІВ. Результати клінічного застосування кріоконсервованої суспензії плаценти з метою лікування фетоплацентарної недостатності. *Педіатрія, акушерство і гінекологія*. **1998**;5:65–68.
438. Бору́та НВ, Білаш СМ, Шепітько ВІ. Морфофункціональна організація червоного кісткового мозку щурів при введенні кріоконсервованої плаценти. *Монографія*. Полтава: «Укрпромторгсервіс»; **2020**. 100 с. Режим доступу: <https://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/14593>
439. Рєпін МВ, Марченко ЛМ, Говоруха ТП, Васькович АМ, Строка ВІ, Кондаков ІІ, Брусенцов ОФ. Вплив попереднього введення кріоекстрактів плаценти різного походження на морфофункціональний стан нирок щурів при моделюванні гострої ниркової недостатності. *Експериментальна і клінічна медицина*. **2017**;2(75):37–43.
440. Kovalev HA, Vysekantsev IP, Ishchenko IO, Abrafikova LG, Olefirenko AA, Sandomirsky BP. Effect of cryopreserved cord blood serum and placenta extract on the healing of cold wounds. *Problems of cryobiology and cryomedicine*. **2015**;25(1):57–66.
441. Lykhitsky OO. Effect of cryopreserved placental tissue on osteogenesis in an experiment with a mandibular fracture. *Clinical dentistry*. **2016**;1(14):37–41.

442. Kutsevlyak VF, Grischenko VV, Nikitchenko JV. Experimental investigation of animals prooxidant-antioxidant balance during the induced generalized periodontitis and its correction by cryopreserved human placenta extract. *Problems of cryobiology*. **2008**;18(4):482–5.
443. Shepitko KV, Shepitko VI, Yurchenko TM, Strona VI. Influence of cryopreserved placental tissue on the course of stable angina pectoris. *Bulletin of emergency and restorative medicine*. **2012**;13(1):146–9.
444. Кондаков П. Антиатерогенна дія кріоконсервованої плаценти при експериментальному атеросклерозі. *Дисертація*: к. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, **2008**. 125 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0408U002316/>
445. Нарожний СВ, Боброва ОМ. Антиагрегантна ефективність екстрактів кріоконсервованої плаценти в альгінатних носіях. *Проблеми кріобіології та кріомедицини*. **2017**;27(2):180.
446. Гріщенко ВІ, Морозова ТФ, Воротілін ОМ, Моїсєєв ВО, Гольцнв АМ, Грищенко ОВ, Прокопюк ОС, Оіпіна ОВ, Ходько ОТ. Приготування та зберігання кріоконсервованої суспензії плаценти для клінічного використання. *Методичні рекомендації*. Харків; **1997**. 19 с.
447. Шепітько ВІ. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів. *Дисертація*: д. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, **2004**. 326 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/>
448. Прокопюк ОС. Кріоконсервування плаценти та визначення механізмів її впливу на організм реципієнтів пізнього онтогенезу (експериментальне дослідження). *Дисертація*: д. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, **2011**. 351 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0514U000218/>
449. Repin M, Chizh Y, Marchenko L, Govorukha T, Narozhnyy S. Composition and biological activity of fetoplacental tissues-derived cryoextracts being differently obtained. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2023**;33(1):3–13. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo33.01.003>
450. Goltsev A, Lutsenko O, Yampolska K, Gaevska Y, Bondarovych M, Ostankova L, Sokil L, Stepaniuk L, et al. Correction of cytokine profile in

- autoimmune diseases with embryofetoplacental complex cryopreserved products. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*, **2022**;32(2):121–33. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo32.02.121>
451. Savio-Silva C, Beyerstedt S, Soinski-Sousa PE, Casaro EB, Balby-Rocha MTA, Simplicio-Filho A, Alves-Silva J, Rangel EB. Mesenchymal stem cell therapy for diabetic kidney disease: a review of the studies using syngeneic, autologous, allogeneic, and xenogeneic cells. *Stem Cells International*. **2020** DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8833725>
 452. Byzov VV, Sandomirsky BP. Possibilities of using xenospleen in clinical practice. *International medical journal*. **2004**;10(1):107–10.
 453. Гальченко СЄ. Кріоконсервування фрагментів органів ссавців і біологічна дія одержаних з них водно-солевих екстрактів. *Дисертація*: д. біол. н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія, Харків, **2007**. 277 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0507U000372/>
 454. Бизов ВВ. Одержання екстракту з кріоконсервованих фрагментів ксеноселезінки та його застосування при абсцесах легенів. *Дисертація*: к. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, **2002**. 147 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0402U002111/>
 455. Олефіренко ОО. Вплив кріодеструкції, екстрактів печінки і селезінки на відновні процеси в печинці при експериментальному цирозі. *Дисертація*: к. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, **2008**. 101 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0408U004142/>
 456. Беспалова ІГ. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят. *Дисертація*: к. біол. н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія, Харків, **2016**. 162 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/>
 457. Byzov VV. Treatment of purulent-destructive lung diseases. *Ukrainian therapeutic magazine*. **2001**;3(2):55–7.
 458. Byzov VV. The use of cryopreserved xenospleen fragments in the treatment of patients with purulent processes in the lungs and pleura. *Problems of cryobiology*. **2000**;1:81–5.
 459. Galchenko SE, Uzlenkova NE, Sleta IV, Sandomirsky BP. Effect of extracts of cryopreserved fragments of xenoorgans on the growth of Geren's tumor. *Experiment and the clinic medicine*. **2005**;1:17–20.

460. Сандомирський БП, Гальченко СЄ, Гальченко КС, Грищенко ВІ. Синчикова ОП, Шевченко ЛЄ. Патент України № 54055. Засіб для лікування ран "Кріосплін": ІПКіК НАН України. №2002043527; Заявл. 26.04.2002. Опубл. 17.02.**2003**. Бюл. № 2.
461. Хворостов СД, Бичков СО, Олефіренко ОО, Слета ІВ, Сандомирський БП. Вплив кріодеструкції та тканинних екстрактів на відновні процеси в печінці при експериментальному цирозі. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина»*. **2009**;36:143–7.
462. Олефіренко ОО, Слета ІВ, Гальченко СЄ. Лікування експериментального цирозу печінки екстрактами кріоконсервованих фрагментів печінки та селезінки. *Медицина транспорту України*. **2009**;2:20–5.
463. Гальченко СЄ, Шкодовська НЮ, Сандомирський БП, Грищенко ВІ. Патент України № 64381. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів. № заявки 2003054649. Заявлено 22.05.2003; Опубл. 16.02.**2004**. Бюл. № 2.
464. Galchenko SE. Extracts of cryopreserved fragments of xenoorgans: procurement and biological effect. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2005**;15(3):403–6.
465. Bepalova IG, Rogoza LA, Galchenko SY, Sandomyrsky BP. Extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and piglet skin affect the healing of cold wounds in rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2015**;25(2):151–61. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.02.151>
466. Сандомирський БП, Гальченко СЄ, Бизов ВВ. та ін. Заготівля, кріоконсервування та клінічне застосування фрагментів селезінки свиней та екстракту з них. *Методичні рекомендації*. МОЗ України. Центр трансплантації органів, тканин та клітин; Харків; **2001**. 9 с.
467. Khavinson VK, Popovich IG, Linkova NS, Mironova ES, Ilna AR. Peptide regulation of gene expression: a systematic review. *Molecules*. **2021**;26(22):7053. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26227053>
468. Lee AC, Harris JL, Khanna KK, Hong JH. A comprehensive review on current advances in peptide drug development and design. *International Journal of Molecular Sciences*. **2019**;20(10):2383. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20102383>

469. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells*. **2019**;8(5):467. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells8050467>
470. Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of Translational Medicine*. **2014**;12:260. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-014-0260-8>
471. Yang D, Wang W, Li L, Peng Y, Chen P, Huang H, Guo Y, Xia X, et al. The relative contribution of paracrine effect versus direct differentiation on adipose-derived stem cell transplantation mediated cardiac repair. *PLoS One*. **2013**;8(3):e59020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059020>
472. Gazdic M, Volarevic V, Arsenijevic N, Stojkovic M. Mesenchymal stem cells: a friend or foe in immune-mediated diseases. *Stem Cell Reviews and Reports*. **2015**;11(2):280–7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-014-9583-3>
473. Pawitan JA. Prospect of stem cell conditioned medium in regenerative medicine. *BioMed Research International*. **2014**;2014:965849. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/965849>
474. Maguire G. Stem cell therapy without the cells. *Communicative & Integrative Biology*. **2013**;6(6):e26631. DOI: <https://doi.org/10.4161/cib.26631>
475. Su X, Upadhyay A, Tran SD, Lin Z. Cell-Free Therapies: The use of cell extracts to mitigate irradiation-injured salivary glands. *Biology (Basel)*. **2023**;12(2):305. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology12020305>
476. Su X, Liu Y, ElKashty O, Seuntjens J, Yamada KM, Tran SD. Human bone marrow cell extracts mitigate radiation injury to salivary gland. *Journal of Dental Research*. **2022**;101(13):1645–53. DOI: <https://doi.org/10.1177/00220345221112332>
477. Tran SD, Liu Y, Xia D, Maria OM, Khalili S, Wang RW, Quan VH, Hu S, et al. Paracrine effects of bone marrow soup restore organ function, regeneration, and repair in salivary glands damaged by irradiation. *PLoS One*. **2013**;8(4):e61632. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061632>
478. Ra K, Park SC, Lee BC. Female reproductive aging and oxidative stress: mesenchymal stem cell conditioned medium as a promising antioxidant.

- International Journal of Molecular Sciences*. **2023**;24(5):5053. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24055053>
479. Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M. Concise Review: mesenchymal stem cells: from roots to boost. *Stem Cells*. **2019**;37(7):855–64. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.3016>
 480. Solursh M, Meier S. A conditioned medium (CM) factor produced by chondrocytes that promotes their own differentiation. *Developmental Biology*. **1973**;30(2):279–89. DOI: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(73\)90089-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(73)90089-4)
 481. Kim HO, Choi S-M, Kim H-S. Mesenchymal stem cell-derived secretome and microvesicles as a cell-free therapeutics for neurodegenerative disorders. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. **2013**;10:93–101. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13770-013-0010-7>
 482. Ivanisova D, Bohac M, Culenova M, Smolinska V, Danisovic L. Mesenchymal-stromal-cell-conditioned media and their implication for osteochondral regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. **2023**;24(10):9054. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24109054>
 483. Sagaradze G, Grigorieva O, Nimiritsky P, Basalova N, Kalinina N, Akopyan Z, Efimenko A. Conditioned Medium from Human Mesenchymal Stromal Cells: Towards the Clinical Translation. *International Journal of Molecular Sciences*. **2019**;20:1656. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20071656>
 484. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. **2019**;8:886. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells8080886>
 485. Li L, Ngo HT, Hwang E, Wei X, Liu Y, Liu J, Yi TH. Conditioned medium from human adipose-derived mesenchymal stem cell culture prevents UVB-induced skin aging in human keratinocytes and dermal fibroblasts. *International Journal of Molecular Sciences*. **2019**;21:49. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21010049>
 486. Bazoobandi S, Tanideh N, Rahmanifar F, Zare S, Koohi-Hosseiniabadi O, Razeghian-Jahromi I, Dianatpour M, Ahmadi M, et al. Preventive effects of intrauterine injection of bone marrow-derived mesenchymal stromal cell-conditioned media on uterine fibrosis immediately after endometrial curettage in rabbit. *Stem Cells International*. **2020**;2020:8849537. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8849537>

487. Joseph A, Baiju I, Bhat IA, Pandey S, Bharti M, Verma M, Pratap Singh A, Ansari MM, et al. Mesenchymal stem cell-conditioned media: a novel alternative of stem cell therapy for quality wound healing. *Journal of Cellular Physiology*. **2020**;235:5555–69. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.29486>
488. Thalakiriyawa DS, Jayasooriya PR, Dissanayaka WL. Regenerative potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Current molecular medicine*. **2022**;22(2):98–119. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566524021666210211114453>
489. Rosochowicz MA, Lach MS, Richter M, Suchorska WM, Trzeciak T. Conditioned medium – is it an undervalued lab waste with the potential for osteoarthritis management? *Stem Cell Reviews and Reports*. **2023**;19(5):1185–213. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-023-10517-1>
490. Gunawardena TNA, Rahman MT, Abdullah BJJ, Kasim NHA. Conditioned media derived from mesenchymal stem cell cultures: the next generation for regenerative medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. **2019**;13(4):569–86. DOI: <https://doi.org/10.1002/TERM.2806>
491. Kalra H, Drummen GP, Mathivanan S. Focus on extracellular vesicles: introducing the next small big thing. *International Journal of Molecular Sciences*. **2016**;17(2):170. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17020170>
492. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of Cell Biology*. **2013**;200(4):373–83. DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>
493. Koniusz S, Andrzejewska A, Muraca M, Srivastava AK, Janowski M, Lukomska B. Extracellular vesicles in physiology, pathology, and therapy of the immune and central nervous system, with focus on extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells as therapeutic tools. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. **2016**;10:109. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00109>
494. Lai FW, Lichty BD, Bowdish DM. Microvesicles: ubiquitous contributors to infection and immunity. *Journal of Leukocyte Biology*. **2015**;97(2):237–45. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0513-292RR>
495. Mohan A, Agarwal S, Clauss M, Britt NS, Dhillon NK. Extracellular vesicles: novel communicators in lung diseases. *Respiratory Research*. **2020**;21(1):175. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01423-y>

496. Trams EG, Lauter CJ, Salem N Jr, Heine U. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1981**;645(1):63–70. DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90512-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90512-5)
497. Harding C, Heuser J, Stahl P. Endocytosis and intracellular processing of transferrin and colloidal gold-transferrin in rat reticulocytes: demonstration of a pathway for receptor shedding. *European Journal of Cell Biology*. **1984**;35(2):256–63.
498. Giannasi C, Niada S, Della Morte E, Casati S, Orioli M, Gualerzi A, Brini AT. Towards secretome standardization: identifying key ingredients of MSC-Derived therapeutic cocktail. *Stem Cells International*. **2021**;2021:3086122. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/3086122>
499. Yang D, Wang W, Li L, Peng Y, Chen P, Huang H, Guo Y, Xia X, et al. The relative contribution of paracrine effect versus direct differentiation on adipose-derived stem cell transplantation mediated cardiac repair. *PLoS ONE*. **2013**;8:e59020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059020>
500. Bakondi B, Shimada IS, Perry A, Munoz JR, Ylostalo J, Howard AB, Gregory CA, Spees JL. CD133 identifies a human bone marrow stem/progenitor cell sub-population with a repertoire of secreted factors that protect against stroke. *Molecular Therapy*. **2009**;17:1938–47. DOI: <https://doi.org/10.1038/mt.2009.185>
501. Cantinieaux D, Quertainmont R, Blacher S, Rossi L, Wanet T, Noel A, Brook G, Schoenen J, et al. Conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves recovery after spinal cord injury in rats: an original strategy to avoid cell transplantation. *PLoS ONE*. **2013**;8:e69515. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069515>
502. Chang CP, Chio CC, Cheong CU, Chao CM, Cheng BC, Lin MT. Hypoxic preconditioning enhances the therapeutic potential of the secretome from cultured human mesenchymal stem cells in experimental traumatic brain injury. *Clinical Science*. **2013**;124:165–76. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20120226>
503. Mishra PJ, Mishra PJ, Banerjee D. Cell-free derivatives from mesenchymal stem cells are effective in wound therapy. *World Journal of Stem Cells*. **2012**;4:35–43. DOI: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v4.i5.35>

504. Du Z, Wei C, Cheng K, Han B, Yan J, Zhang M, Peng C, Liu Y. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces liver injury and enhances regeneration in reduced-size rat liver transplantation. *Journal of Surgical Research*. **2013**;183:907–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.02.009>
505. Koppen A, Joles JA, van Balkom BW, Lim SK, de Kleijn D, Giles RH, Verhaar MC. Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease. *PLoS ONE*. **2012**;7:e38746. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038746>
506. Kawai T, Katagiri W, Osugi M, Sugimura Y, Hibi H, Ueda M. Secretomes from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells enhance periodontal tissue regeneration. *Cytotherapy*. **2015**;17:369–81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2014.11.009>
507. Osugi M, Katagiri W, Yoshimi R, Inukai T, Hibi H, Ueda M. Conditioned media from mesenchymal stem cells enhanced bone regeneration in rat calvarial bone defects. *Tissue Engineering Part A*. **2012**;18:1479–89. DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0325>
508. Veronesi F, Borsari V, Sartori M, Orciani M, Mattioli-Belmonte M, Fini M. The use of cell conditioned medium for musculoskeletal tissue regeneration. *Journal of Cellular Physiology*. **2018**;233:4423–42. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26291>
509. Montero-Vilchez T, Sierra-Sanchez A, Sanchez-Diaz M, Quinones-Vico MI, Sanabria-de-la-Torre R, Martinez-Lopez A, Arias-Santiago S. Mesenchymal stromal cell-conditioned medium for skin diseases: a systematic review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. **2021**;9:654210. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.654210>
510. Sagaradze GD, Basalova NA, Kirpatovsky VI, Ohobotov DA, Grigorieva OA, Balabanyan VY, Kamalov AA, Efimenko AY. Application of rat cryptorchidism model for the evaluation of mesenchymal stromal cell secretome regenerative potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **2019**;109:1428–1436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.174>
511. Kay AG, Long G, Tyler G, Stefan A, Broadfoot SJ, Piccinini AM, Middleton J, Kehoe O. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces disease

- severity and immune responses in inflammatory arthritis. *Scientific Reports*. **2017**;7:18019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18144-w>
512. Dahbour S, Jamali F, Alhattab D, Al-Radaideh A, Ababneh O, Al-Ryalat N, Al-Bdour M, Hourani B, et al. Mesenchymal stem cells and conditioned media in the treatment of multiple sclerosis patients: clinical, ophthalmological and radiological assessments of safety and efficacy. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. **2017**;23:866–74. DOI: <https://doi.org/10.1111/cns.12759>
 513. Maguire G. Stem cell therapy without the cells. *Communicative & Integrative Biology*. **2013**;6(6):e26631. DOI: <https://doi.org/10.4161/cib.26631>
 514. Chuang TJ, Lin KC, Chio CC, Wang CC, Chang CP, Kuo JR. Effects of secretome obtained from normoxia-preconditioned human mesenchymal stem cells in traumatic brain injury rats. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. **2012**;73(5):1161–1167. DOI: <https://doi.org/10.1097/TA.0B013E318265D128>
 515. Marlina M, Armenia A, Rahmadian R, Aviani JK, Sholihah IA, Kusuma HS, Widowati W. Conditioned medium of IGF1-induced synovial membrane mesenchymal stem cells increases chondrogenic and chondroprotective markers in chondrocyte inflammation. *Bioscience Reports*. **2021**;41(7):2020–38. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20202038>
 516. Inoue T, Sugiyama M, Hattori H, Wakita H, Wakabayashi T, Ueda M. Stem cells from human exfoliated deciduous tooth-derived conditioned medium enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. *Tissue Engineering Part A*. **2013**;19(1–2):24–9. DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0385>
 517. Ho JCY, Lai W, Li M, Au K, Yip M, Wong NLY, Ng ESK, Lam FFY, et al. Reversal of endothelial progenitor cell dysfunction in patients with type 2 diabetes using a conditioned medium of human embryonic stem cell-derived endothelial cells. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. **2012**;28(5):462–73. DOI: <https://doi.org/10.1002/dmrr.2304>
 518. Cho YJ, Song HS, Bhang S, Lee S, Kang BG, Lee JC, An J, Cha CI, et al. Therapeutic effects of human adipose stem cell-conditioned medium on stroke. *Journal of Neuroscience Research*. **2012**;90(9):1794–802. DOI: <https://doi.org/10.1002/jnr.23063>

519. Bhang SH, Lee S, Shin JY, Lee TJ, Jang HK, Kim BS. Efficacious and clinically relevant conditioned-medium of human adipose-derived stem cells for therapeutic angiogenesis. *Molecular Therapy*. **2014**;22(4):862.
520. Golubinskaya PA, Sarycheva MV, Dolzhikov AA, Bondarev VP, Stefanova MS, Soldatov VO, Nadezhdin SV, Korokin MV, et al. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology*. **2020**;8(6):416–25. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>
521. Gieseke F, Bohringer J, Bussolari R, Dominici M, Handgretinger R, Muller I. Human multipotent mesenchymal stromal cells use galectin-1 to inhibit immune effector cells. *Blood*. **2010**;116(19):3770–9. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-270777>
522. Западнюк ІП, Западнюк ВІ, Захарія ЕА, ред. Лабораторні тварини: розведення, утримання та використання в експерименті. Київ: Вища школа; **1983**. 383 с.
523. Стефанов ОВ, ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів. *Методичні рекомендації*. Київ: Авіцена; **2001**. 527 с. Режим доступу: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77>
524. Насібуллін БА, Гуца СГ, Олешко ОЯ, Бахолдіна ОІ, Кожем'якін ЮМ, Ярошенко НО. Робота з лабораторними тваринами: догляд та відтворення моделей патологічних станів (посібник). За заг. ред. Б.А. Насібулліна, С.Г. Гуці, О.Я. Олешко. Одеса: Поліграф; **2023**. 96 с. Режим доступу: <https://kurort.gov.ua/wp-content/uploads/2024/05/posibnuk-tvarunu.pdf>
525. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». *Відомості Верховної Ради України*. **2006**;27:230 (зі змінами). Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>
526. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. *Ендокринологія*. **2003**;8(1):142–5.
527. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, Clark A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines

- for reporting animal research. *PLOS Biology*. **2020**;18(7):e3000410. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
528. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады АН СССР*. **1979**;247(6):1513–6. Режим доступа: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/311>
529. Нестерук ГВ, Алабедацькарім НМ, Колот НВ, Комаромі НА, Проценко ОС, Легач ЄІ. Вплив кондиціонованих середовищ від культур гліальних клітин на репродуктивну систему самиць щурів різного віку. *Проблеми ендокринної патології*. **2022**;79(2):88–96. DOI: <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2022.2.13>
530. Caroline Evette Mathen. Patent. A61K35/12. Stem cell conditioned media for clinical and cosmetic applications. Application PCT/IN2018/050078. **2018**. Publication of WO2018150440A1. Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/WO2018150440A1/>
531. Глоба ВЮ. Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції. *Дисертація PhD*: спец. 222 – Медицина, Харків, **2021**. 156 с. Режим доступа: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/>
532. Vogel HG. ed. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; **2008**. 2071 p.
533. Stills HF. Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *International League of Associations of Rheumatologists Journal*. **2005**;46(3):280–93. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280>
534. Freund J. Some aspects of active immunization. *Annual Review of Microbiology*. **1947**;1:291–308. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.01.100147.001451>
535. Harold F. Stils, adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants, *Institute for Laboratory Animal Research Journal*. **2005**;46(3):280–93. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280>
536. Pearson CM. Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and*

- Medicine*. **1956**;91(1):95–101. DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-91-22179>
537. Whiteley PE, Dalrymple SA. Models of inflammation: adjuvant-induced arthritis in the rat. *Current Protocols in Pharmacology*. **2001**;5(5.5). DOI: <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0505s13>
 538. Saratikov AA, Vengerovskii AI. Experimental therapy of adjuvant disease. *Pharmacology and toxicology*. **1983**;46(1):116–20.
 539. Kment A, Hofecker G, Niedermüller H, Dreier HK. Specific incorporation of labelled tissue homogenates into the homologous organs of the rat *Arzneimittelforschung*. **1976**;26(11):2043–6.
 540. Степанова ТЮ. Ефективність та деякі механізми дії аміксіну за експериментального алергічного енцефаломієліту. *Дисертація*: к. біол. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія. **2013**. 155 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0413U002176/>
 541. Pivneva TA. Mechanisms underlying the process of demyelination in multiple sclerosis. *Neurophysiology*. **2009**;5:365–73. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11062-010-9114-z>
 542. Нефьодов ОО. Фармакологічний аналіз нейропротекції за умов експериментального алергічного енцефаломієліту. *Дисертація*: д. мед. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія, **2017**. 373 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0517U000776/>
 543. Lassmann H. Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair. *Current Opinion in Neurology*. **2008**;21(3):242–7. DOI: <https://doi.org/10.1097/wco.0b013e3282fee94a>
 544. Boccaccio GL, Steinman L. Multiple sclerosis: from a myelin point of view. *Journal of Neuroscience Research*. **1996**;45(6):647–54. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547)
 545. Kalman B, Lublin FD. Immunotherapy in neuroimmunologic diseases. London: Martin Dunitz, 1998.
 546. Ransohoff RM. Chemokines in neurological disease models: correlation between chemokine expression patterns and inflammatory pathology. *Journal of Leukocyte Biology*. **1997**;62(5):645–52. DOI: <https://doi.org/10.1002/jlb.62.5.645>

547. Ding M, Zhang M, Wong JL, Rogers NE, Ignarro LJ, Voskuhl RR. Antisense knockdown of inducible nitric oxide synthase inhibits induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice. *Journal of Immunology*. **1998**;160(6):2560–4.
548. Pender MP. Demyelination and neurological signs in experimental allergic encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*. **1987**;15(1):11–24. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(87\)90003-8](https://doi.org/10.1016/0165-5728(87)90003-8)
549. Нефьодов ОО, Мамчур ВЙ, Харченко ВЮ. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту. *Вісник проблем біології і медицини*. **2014**; 4(114):205–8. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2014_4%282%29_46
550. Нефьодов ОО, М'ясоєд ЮП, Соломенко МВ, Великородна-Танасійчук ОВ, Баклунов ВВ, Адегова ЛЯ, Чиркін ВІ, Демиденко ЮВ. Ефективність моделювання експериментального алергічного енцефаломієліту як експериментальної моделі розсіяного склерозу. *Український журнал медицини, біології та спорту*. **2021**;6(34):57–65. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ujmbs_2021_6_6_8
551. Лисяний НІ, Маркова ОВ, Горобець ОБ, Семенова ВМ, Бельська ЛМ. Функціональний стан імунокомпетентних клітин у селезінці та головному мозку щурів після індукції експериментального алергічного енцефаломієліту. *Імунологія та алергологія*. **1998**;1:98–103.
552. Нефьодов ОО, Мамчур ВЙ. Зміни ноцицептивного потенціалу та активності РGH-синтетази за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу. *Буковинський медичний вісник*. **2015**;19(3):114–7. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2015_19_3_30
553. Черненко МЄ, Вовк ВІ. Розсіяний склероз: сучасні підходи до патогенетичної терапії. *Міжнародний медичний журнал*. **2015**;21(1):58–62. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh_2015_21_1_14
554. Гладких ДП. Теоретичне й експериментальне моделювання лікувальної дії нативних і кріоконсервованих продуктів фетоплацентарного комплексу при автоімунному тиреоїдиті. *Дисертація: к. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, 2010. 125 с.* Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0410U005278/>

555. Курилко ЮС. Експериментальне визначення впливу біопрепарату кордової крові на функціональну активність щитоподібної залози та імунну систему у щурів за умов моделювання аутоімунного тиреоїдиту. PhD: спец. 091 – Біологія та біохімія, Харків, **2024**. 189 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0823U101476/>
556. Курилко ЮС, Малова НГ, Сиротенко ЛА. Тиреоїдна функція щурів з експериментальним АІТ на ранньому терміні після введення біопрепарату кордової крові. *Проблеми ендокринної патології*. **2021**;78(4):104–9. DOI: <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2021.4.14>
557. Witebsky E, Rose NR, Terplan K, Paine JR, Egan RW. Chronic thyroiditis and autoimmunization. *Journal of the American Medical Association*. **1957**;164(13):1439–47. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.1957.02980130015004>
558. Kahaly GJ, Gottwald-Hostalek U. Use of levothyroxine in the management of hypothyroidism: a historical perspective. *Frontiers in Endocrinology*. **2022**;1054983. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1054983>
559. Pavlenko HP. Free radical, antioxidant, and hemocoagulation processes are normal in experimental heart pathology and their limitation by a peptide bioregulator. Dissertation abstract. Kharkiv. 1993. 20 p.
560. Fontes JA, Barin JG, Talor MV, Stickel N, Schaub J, Rose NR, Cihakova D. Complete Freund`s adjuvant induces experimental autoimmune myocarditis by enhancing IL-6 production during initiation of the immune response. *Immunity, Inflammation and Disease*. **2017**;5(2):163–76. DOI: <https://doi.org/10.1002/iid3.155>
561. Root-Bernstein R, Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology*. **2015**;375:101–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>
562. Джигалюк ОВ, Степанюк ГІ, Заїчко НВ, Коваленко СІ, Шабельник КП. Характеристика впливу 4-[4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (ПК-66) на перебіг адреналінової міокардіодистрофії в щурів за даними біохімічних досліджень. *Медична та клінічна хімія*. **2016**;18(4):16–22. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7249>
563. Шебеко СК. Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування похідних аміноцукрів та флавоноїдів в терапії хронічної хвороби нирок. *Дисертація*: д. фарм. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія,

Харків. 2017. 516 с. Режим доступу:
<https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0521U100125/>

564. Deepthi R, Suhasin G. A review on animal models of chronic kidney disease – an update. *Biomedical and Pharmacology Journal*. **2023**;16(3): 1319–27. DOI: <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2711>
565. Zahraa Mohammed-Ali, Rachel E. Carlisle, Samera Nademi, Jeffrey G. Dickhout, Chapter 16 – Animal Models of Kidney Disease. **2017**;379–417. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00016-4>
566. Jefferson JA, Pippin JW, Shankland SJ. Experimental models of membranous nephropathy. *Drug Discovery Today: Disease Models*. **2010**;7(1–2):27–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2010.11.001>
567. Becker GJ, Hewitson TD. Animal models of chronic kidney disease: useful but not perfect. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **2013**;28(10):2432–8. DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/gft071>
568. Wang YM, Lee VWS, Wu H, Harris DCH, Alexander SI. Heymann nephritis in Lewis rats. *Current Protocols in Immunology*. **2015**;109:1–6. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1529s109>
569. Штриголь СЮ, Лісовий ВМ, Зупанець ІА, Шебеко СК, Маслова НФ, Гоженко АІ, Харченко ДС. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень. *Методичні рекомендації*. Харків: НФаУ; **2009**. 48 с.
570. Pusey CD, Holland MJ, Cashman SJ, Sinico RA, Lloveras JJ, Evans DJ, Lockwood CM. Experimental autoimmune glomerulonephritis induced by homologous and isologous glomerular basement membrane in Brown-Norway rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **1991**;6(7):457–65. DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/6.7.457>
571. Подплітня ОА, Хомяк НВ, Соколова КВ, Кайдаш СП, Хомяк ОВ. Фітотерапевтичні лікарські засоби з нефропротекторною активністю (огляд). *Медичні перспективи*. **2017**;22(17):10–7. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2017.1.100866>
572. Монатко КВ. Експериментальне дослідження нефропротекторної дії ліофільного порошку кавуна. *Дисертація*: к. фарм. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія, Харків. **2014**. 217 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0414U004729/>

573. Борисов СО, Колосов ОМ, Костєв ФІ, Борисов ОВ. Дослідження функціонального стану нирок щурів при гострому пієлонефриті на фоні цукрового діабету за умов медикаментозного впливу в експерименті. *Здоров'я чоловіка*. **2020**;72(1):80–3. DOI: <https://doi.org/10.30841/2307-5090.1.2020.205494>
574. Besseling PJ, Pieters TT, Nguyen ITN, de Bree PM, Willekes N, Dijk AH, Bovee DM, Hoorn EJ, Rookmaaker MB, Gerritsen KG, Verhaar MC, Gremmels H, Joles JA. A plasma creatinine- and urea-based equation to estimate glomerular filtration rate in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. **2021**;320(3):518–24. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00656.2020>
575. Kohda H, Sekiya C, Kanai M, Yoshida Y, Uede T, Kikuchi K, Namiki M. Flow cytometric and functional analysis of mononuclear cells infiltrating the liver in experimental autoimmune hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology*. **1990**;82(3):473–8. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb05474.x>
576. Ганчо ОВ. Вплив комплексів пептидів тваринного походження на імунітет за умов норми та різних функціональних станів організму. *Дисертація*: к. біол. н.: спец. 03.00.13 – Фізіологія людини і тварин, Полтава. **2002**. 170 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0403U003416/>
577. Чекман ІС, Поготова ГА, Небесна ТЮ, та ін. Квантово-фармакологічне дослідження антиоксидантних властивостей силімарину. *Український біофармацевтичний журнал*. **2014**;(2):24–8.
578. Avelar CR, Pereira EM, Farias Costa PR, Jesus RP, Oliveira LPM. Effect of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: systematic review with meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. **2017**;23(27):5004–17. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i27.5004>
579. Шанайда МІ, Олещук ОМ, Лихацький ПГ, Кернична ІЗ. Дослідження гепатопротекторної активності рідкого екстракту трави Чаберу садового

- при тетрахлорметановому гепатиті. *Фармацевтичний часопис*. **2017**;2:91–7. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7899>
580. Кошурба ІВ. Дослідження впливу кріоекстракту плаценти на процеси цитолізу та перекисного окислення ліпідів за CCl₄-індукованого ураження печінки. *Сучасні медичні технології*. **2022**;54(3):46–54. DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.3\(54\).2022.9](https://doi.org/10.34287/MMT.3(54).2022.9)
581. Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. **2000**;43(1):11–4. DOI: [http://doi.org/10.1016/s1056-8719\(00\)00089-7](http://doi.org/10.1016/s1056-8719(00)00089-7)
582. Ben-Bassat J, Peretz E, Sulman FG. Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. **1959**;122:434–47.
583. Randall L, Selitto J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives of International Pharmacodynamics*. **1957**;111:409–19.
584. Гацура ВВ. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М.: Медицина; 1974. 142 с.
585. Западнюк ІП, Западнюк ВІ, Захарія ЕА, ред. Лабораторные животные: разведение, содержания и использование в эксперименте. Київ: Вища школа; **1983**. 383 с.
586. Веселовська ОВ, Шляхова АВ, Гармаш ТІ. Ефекти дистантної імплантації ембріональних тканин медичної п'явки у щурів з геморагічним інсультом. *Український неврологічний журнал*. **2015**;2: 87–92. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/UNJ_2015_2_18
587. Дейко РД. Експериментальне вивчення церебропротекторних та психотропних властивостей нових циклічних і лінійних олігопептидів. *Дисертація*: к. фарм. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія, **2017**. 258 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0418U002231/>
588. Соловійов СО, Трохименко ОП, Поліщук ВЮ, Піць ВВ, Василенко ВЮ, Василенко ЄЮ, Голь ІО, Симчук АА, Костюк ОВ. Моделювання *in vitro* впливу метаболітів лактобактерій на системну відповідь організму при

- кишковій вірусній інфекції. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. **2024**;8(2):38–52. DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2024.8.2.306587>
589. Kim KH, Sederstrom JM. Assaying cell cycle status using flow cytometry. *Current Protocols in Molecular Biology*. **2015**;111:28.6.1-28.6.11. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2806s111>
 590. Ходаківський ОА. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання нових похідних адамантану при експериментальній терапії гострої ішемії головного мозку та міокарда (експериментальне дослідження). *Дисертація*: д. мед. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія, Вінниця, **2014**. 297 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0515U000008/>
 591. Darzynkiewicz Z, Halicka HD, Zhao H. Analysis of cellular DNA content by flow and laser scanning cytometry. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **2010**;676:137–47. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6199-0_9
 592. Mazzini G, Ferrari C, Erba E. Dual excitation multifluorescence flow cytometry for detailed analyses of viability and apoptotic cell transition. *European Journal of Histochemistry*. **2003**;47(4):289–98.
 593. Arjmand B, Goodarzi P, Aghayan HR, Payab M, Rahim F, Alavi-Moghadam S, et al. Co-transplantation of human fetal mesen-chymal and hematopoietic stem cells in type 1 diabetic mice model. *Frontiers in Endocrinology*. **2019**;10:761. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00761>
 594. Yi S, Chen Y, Wen L, Yang L, Cui G. Expression of connexin 32 and connexin 43 in acute myeloid leukemia and their roles in proliferation. *Oncology Letters*. **2012**;4(5):1003–7. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2012.884>
 595. Черешнюк ІЛ, Комнацька КМ, Повх ВЛ, Ходаківський ОА. Комплексний підхід до доклінічної оцінки безпечності нейроретинопротекторів при різних шляхах введення. *Вісник морфології*. **2015**;21(2):379–85. Режим доступу: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/173>
 596. Chyzh MO, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Ultrasound assessment of heart remodelling affected by therapeutic hypothermia and MSC on myocardial infarction model. *Ukrainian journal of radiology and*

oncology.

2020;3(28):222–40.

DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2020.222-240>

597. Chyzh MO, Belochkina IV, Globa VYu, Sleta IV, Mikhailova IP, Hladkykh FV. Ultrasound examination of rat hearts after experimental epinephrine-induced damage and the application of heart xenoextract. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2024;32(2(49)):185–97. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>
598. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *American Journal of Cardiology*. 1986;57(6):450–8. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(86\)90771-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90771-x)
599. Asakawa T, Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980;15(3):137–40.
600. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*. 1984;105:121–6. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
601. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988;1:16–9.
602. Чевари С, Чаба, Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985;11:678–81.
603. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. МЕДпресс-информ; 2009. 896 с.
604. Гула НМ, Косякова ГВ, Бердишев АГ. Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом. *Український біохімічний журнал*. 2007;79(5):153–8.

605. Сумбаев ВВ, Ясинская ИМ. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге. *Современные проблемы токсикологии*. **2000**;3:3–7.
606. Griess P. Bemerkungen zu der abhandlung der HH, Weselsky und Benedikt. "Ueber einige azoverbindungen." *Chemische Berichte*. **1879**;12:426–8. DOI: <https://doi.org/10.1002/cber.187901201117>
607. Atkinson DE. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism. The metabolic roles of citrate. London and New York, **1968**:23–40.
608. Atkinson DE, Walton GM. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. Rat liver citrate cleavage enzyme. *Journal of Biological Chemistry*. **1967**;242(13):3239–41.
609. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. **1957**;28(1):56–63.
610. Szasz G. A kinetic photometric method for serum γ -glutamyltransferase. *Clinical Chemistry*. **1969**;15(2):124–36.
611. Szasz G. New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie*. **1974**;12(5):228–33.
612. Lowry OH, Rosenbroun NI, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. **1951**;193. 265–75.
613. Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphate with five cubic millimeters of serum. *The Journal of Biological Chemistry*. **1946**;164:321–329.
614. Tokuda K. Tanimoto K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. *Japanese Journal of Clinical Chemistry*. **1993**;22(2):116–22.
615. Vink KL, Schuurman W, van Gansewinkel R. Use of the caffeine reagent in direct spectrophotometry of bilirubin. *Clinical Chemistry*. **1986**;32(7):1389–93.

616. Talke H, Schubert G. E. Enzymatic urea determination in the blood and serum in Warburg optical test. *Klinische Wochenschrift*. **1965**;41:174–5.
617. Jaffe M. Concerning both the precipitation caused in normal urine by picric acid and a new reaction with creatinine. *Zeitschrift Fuer Physiologische Chemie*. **1886**;10:391–400.
618. Чекман ІС, Бєленічев ІФ, Нагорна ОО, Горчакова НО, Лук'янчук ВД, Бухтіярова НВ, Горбачова СВ, Сирова ГО. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції. *Методичні рекомендації*. Київ: ДП «Державний експертний центр МОЗ України»; **2016**. 80 с. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14537413>
619. Hohorst H-J. L-(+)-Lactate: determination with lactic dehydrogenase and DPN. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press; 1965. p. 266–277. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50058-X>
620. Hohorst H-J. L-(–)-Malate: determination with malic dehydrogenase and DPN. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press; 1965. p. 328–334. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50070-0>
621. Bucker T, Czok R, Lamprecht W, Latzko E. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press; 1965. p. 253–259.
622. Lamprecht W, Heinz F. Pyruvate. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. VI. New York: Academic Press; 1983. p. 570–577.
623. Zar JH. Biostatistical analysis (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. **2014**; 960 p.
624. Yan F, Robert M, Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. **2017**;9(5):157–63.
625. Ekambaram S, Perumal SS, Subramanian V. Evaluation of antiarthritic activity of *Strychnos potatorum* Linn seeds in Freund's adjuvant induced

- arthritic rat model. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. **2010**;10:56. DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-56>
626. Hladkykh FV. Anti-inflammatory properties of diclofenac sodium on background of its combined use with cryopreserved placenta extract in experiment. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2021**;31(4):364–7. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo31.04.364>
 627. Ye Z, Zhang M, Ding N, Gao P, Hei Y, Wang Y, Gao W, Ye Q. Antinociceptive effects of dezocine on complete Freund's adjuvant-induced inflammatory pain in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*. **2018**;15(6):5469–74. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6110>
 628. Kwok CHT, Learoyd AE, Canet-Pons J, Trang T, Fitzgerald M. Spinal interleukin-6 contributes to central sensitisation and persistent pain hypersensitivity in a model of juvenile idiopathic arthritis. *Brain, Behavior, and Immunity*. **2020**;90:145–54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.08.004>
 629. Swann JW, Koneva LA, Regan-Komito D, Sansom SN, Powrie F, Griseri T. IL-33 promotes anemia during chronic inflammation by inhibiting differentiation of erythroid progenitors. *Journal of Experimental Medicine*. **2020**;217(9):e20200164. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.20200164>
 630. Pope JE, Choy EH. C-reactive protein and implications in rheumatoid arthritis and associated comorbidities. *Semin Arthritis Rheum*. **2021**;51(1):219–29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2020.11.005>
 631. Fattahi MJ, Mirshafiey A. Prostaglandins and rheumatoid arthritis. *Arthritis*. 2012;239310. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/239310>
 632. Ferrante E, Vazzana N, Santilli F, Di Cicco M, Lauriti C, Di Battista L, Ciabattini G, Di Matteo L, Davi G. Determinants of thromboxane biosynthesis in rheumatoid arthritis: Role of RAGE and oxidant stress. *Free Radical Biology and Medicine*. **2010**;49(5):857–64.
 633. Zheng LX, Li KX, Hong FF, Yang SL. Pain and bone damage in rheumatoid arthritis: role of leukotriene B4. *Clinical and Experimental Rheumatology*. **2019**;37(5):872–8.

634. Ridgley LA, Anderson AE, Pratt AG. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis? *Current Opinion in Rheumatology*. **2018**;30(2):207–14. DOI: <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000470>
635. Dinarello CA, van der Meer JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. *Seminars in Immunology*. **2013**;25(6):469–84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.008>
636. Holbrook J, Lara-Reyna S, Jarosz-Griffiths H, McDermott M. Tumour necrosis factor signalling in health and disease. *F1000Res*. **2019**;8:1000. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.17023.1>
637. Lubberts E. The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. **2015**;11(7):415–29. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.53>
638. Paulissen SM, van Hamburg JP, Davelaar N, Asmawidjaja PS, Hazes JM, Lubberts E. Synovial fibroblasts directly induce Th17 pathogenicity via the cyclooxygenase/prostaglandin E2 pathway, independent of IL-23. *The Journal of Immunology*. **2013**;191(3):1364–72. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300274>
639. Schinocca C, Rizzo C, Fasano S, Grasso G, La Barbera L, Ciccia F, Guggino G. Role of the IL-23/IL-17 Pathway in rheumatic diseases: an overview. *Frontiers in Immunology*. **2021**;12:637829. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.637829>
640. Isomaki P, Punnonen J. Pro- and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Annals of Medicine*. **1997**;29(6):499–507. DOI: <https://doi.org/10.3109/07853899709007474>
641. Haan A, van der Vliet MR, Hendriks JJ, Heijnen DA, Dijkstra CD. Changes in characteristics of rat skeletal muscle after experimental allergic encephalomyelitis. *Muscle & nerve*. **2004**;29(3):369–75. DOI: <https://doi.org/10.1002/mus.10554>
642. Пічкур ЛД, Семенова ВМ, Величко ОМ, Вербовська СА, Єгорова ДМ, Акінола СТ, Васлович ВВ. Оптимізація моделювання експериментального алергічного енцефаломієліта з хронічним

- рецидивуючим перебігом. *Експериментальна і клінічна медицина*. **2017**;4(77):4–14.
643. Ghosh R, Roy D, Dubey S, Das S, Benito-Leon J. Movement disorders in multiple sclerosis: an update. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*. **2022**;12:14. DOI: <https://doi.org/10.5334/tohm.671>
 644. Margoni M, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Depressive symptoms, anxiety and cognitive impairment: emerging evidence in multiple sclerosis. *Translational psychiatry*. **2023**;13(1):264. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02555-7>
 645. Wu A, Lee D, Xiong WC. Lactate metabolism, signaling, and function in brain development, synaptic plasticity, angiogenesis, and neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. **2023**;24(17):13398. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241713398>
 646. Prochownik EV, Wang H. The metabolic fates of pyruvate in normal and neoplastic cells. *Cells*. **2021**;10(4):762. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10040762>
 647. Chandel NS. Glycolysis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2021**;13(5):a040535. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040535>
 648. Chandel NS. Mitochondria. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2021**;13(3):a040543. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040543>
 649. Chandel NS. Basics of metabolic reactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. **2021**;13(8):a040527. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040527>
 650. Interdonato L, Impellizzeri D, D'Amico R, Cordaro M, Siracusa R, D'Agostino M, Genovese T, Gugliandolo E, Crupi R, Fusco R, Cuzzocrea S, Di Paola R. Modulation of TLR4/NFκB Pathways in autoimmune myocarditis. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. **2023**;12(8):1507. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12081507>

651. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications*. **2017**;482(3):419–25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
652. Kodydkova J, Vavrova L, Kocik M, Zak A. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia biologica*. **2014**;60(4):153–67.
653. Stavely R., Nurgali, K. The emerging antioxidant paradigm of mesenchymal stem cell therapy. *Stem cells translational medicine*. **2020**;9(9):985–1006. DOI: <https://doi.org/10.1002/sctm.19-0446>
654. Kovalcikova A, Jansakova K, Gyuraszova M, Podracka L, Sebekova K, Celec P, Tothova L. Salivary creatinine and urea are higher in an experimental model of acute but not chronic renal disease. *PLoS One*. **2018**;13(7):e0200391. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200391>
655. Repin MV, Chyzh YuO, Marchenko LM, Govorukha TP, Brusentsov OF. Effect of placenta cryoextract and blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system on the development of renal failure in rats. *Problems of cryobiology and cryomedicine*. **2021**;31(3):223–35. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo31.03.22>
656. Cybulsky AV, Papillon J, McTavish AJ. Complement activates phospholipases and protein kinases in glomerular epithelial cells. *Kidney International*. **1998**;54(2):360–72. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00013.x>
657. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J, McTavish AJ. Complement-induced phospholipase A2 activation in experimental membranous nephropathy. *Kidney International*. **2000**;57(3):1052–62. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00932.x>
658. Takano T, Cybulsky AV. Complement C5b-9-mediated arachidonic acid metabolism in glomerular epithelial cells: role of cyclooxygenase-1 and -2. *The American Journal of Pathology*. **2000**;156(6):2091–2101. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65080-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65080-8)

659. Li Y, Yan M, Yang J, Raman I, Du Y, Min S, Fang X, Mohan C, Li QZ. Glutathione S-transferase Mu 2-transduced mesenchymal stem cells ameliorated anti-glomerular basement membrane antibody-induced glomerulonephritis by inhibiting oxidation and inflammation. *Stem Cell Research & Therapy*. **2014**;5(1):19. DOI: <https://doi.org/10.1186/scrt408>
660. Meenakshi SR, Agarwal R. Nitric oxide levels in patients with chronic renal disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. **2013**;7(7):1288–90. DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5972.3119>
661. Oliveira FRMB, Assreuy J, Sordi R. The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury. *Bioscience Reports*. **2022**;42(7):BSR20220093. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20220093>
662. Heemskerk S, Masereeuw R, Russel FG, Pickkers P. Selective iNOS inhibition for the treatment of sepsis-induced acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*. **2009**;5(11):629-40. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneph.2009.155>
663. Cattell V. Nitric oxide and glomerulonephritis. *Kidney International*. **2002**;61(3):816–21. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00226.x>
664. Furusu A, Miyazaki M, Abe K, Tsukasaki S, Shiohita K, Sasaki O, Miyazaki K, Ozono Y, Koji T, Harada T, Sakai H, Kohno S. Expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase in human glomerulonephritis. *Kidney International*. **1998**;53(6):1760–8. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00907.x>
665. Simovic Markovic B, Gazdic M, Arsenijevic A, Jovicic N, Jeremic J, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in iNOS-dependent manner. *Stem Cells International*. **2017**;2017:1315378. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/1315378>
666. Kalas MA, Chavez L, Leon M, Taweessedt PT, Surani S. Abnormal liver enzymes: a review for clinicians. *World Journal of Hepatology*. **2021**;13(11):1688–98. DOI: <https://doi.org/10.4254/wjh.v13.i11.1688>

667. Zgheib H, Wakil C, Shayya S, Mailhac A, Al-Taki M, El Sayed M, Tamim H. Utility of liver function tests in acute cholecystitis. *Annals of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*. **2019**;23(3):219–27. DOI: <https://doi.org/10.14701/ahbps.2019.23.3.219>
668. Zhang Y, Zhang Z, Wu M, Zhang R. Advances and perspectives of responsive probes for measuring γ -glutamyl transpeptidase. *ACS Measurement Science Au Journal*. **2023**;4(1):54–75. <https://doi.org/10.1021/acsmeasuresciau.3c00045>
669. Sekaran S, Vimalraj S, Thangavelu L. The physiological and pathological role of tissue nonspecific alkaline phosphatase beyond mineralization. *Biomolecules*. **2021**;11(11):1564. DOI: <https://doi.org/10.1021/10.3390/biom11111564>
670. Manuc T, Preda CM, Istratescu D, Gheorghe L, Cerban R, Ester C, Stroie TG, Alecu RI, et al. Silymarin versus essential phospholipids in metabolic associated steatotic liver disease (MASLD) – a prospective comparative randomized trial. *Maedica (Bucur)*. **2024**;19(1):9–16. DOI: <https://doi.org/10.26574/maedica.2024.19.1.9>
671. Wadhwa K, Pahwa R, Kumar M, Kumar S, Sharma PC, Singh G, Verma R, Mittal V, et al. Mechanistic insights into the pharmacological significance of Silymarin. *Molecules*. **2022**;27(16):5327. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27165327>
672. Chen Z, Song C, Yao Z, Sun J, Liu W. Associations between albumin, globulin, albumin to globulin ratio and muscle mass in adults: results from the national health and nutrition examination survey 2011-2014. *BMC Geriatrics*. **2022**;22(1):383. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-022-03094-4>
673. Shang G, Fei Z, Xu H, Wang Y, Xiang S. Globulin and albumin to globulin ratio precisely diagnose periprosthetic joint infection and determine the timing of second-stage reimplantation. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. **2022**;17(1):12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02899-0>
674. Pemberton PW, Aboutwerat A, Smith A, Burrows PC, McMahon RF, Warnes TW. Oxidant stress in type I autoimmune hepatitis: the link between

- necroinflammation and fibrogenesis? *Biochimica et Biophysica Acta*. **2004**;1689(3):182–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.01.005>
675. Ra K, Park SC, Lee BC. Female reproductive aging and oxidative stress: mesenchymal stem cell conditioned medium as a promising antioxidant. *International Journal of Molecular Sciences*. **2023**;24(5):5053. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24055053>
676. Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Чиж МО. Модуляція ліпопероксидації та енергетичного обміну в слизовій оболонці шлунка як механізм активності кріоекстракту плаценти в загоєнні стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження. *Гастроентерологія*. **2022**;56(3):149–55. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503>
677. De la Fuente IM, Cortes JM, Valero E, Desroches M, Rodrigues S, Malaina I, Martinez L. On the dynamics of the adenylate energy system: homeorhesis vs homeostasis. *PloS one*. **2014**;9(10):e108676. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108676>
678. Tan EP, Duncan FE, Slawson C. The sweet side of the cell cycle. *Biochemical Society transactions*. **2017**;45(2):313–22. <https://doi.org/10.1042/BST20160145>
679. Duncan FE, Slawson C. The sweet side of the cell cycle. *Biochemical Society Transactions*. **2017**;45(2):313–22. DOI: <https://doi.org/10.1042/BST20160145>
680. Huang X, Halicka HD, Traganos F, Tanaka T, Kurose A, Darzynkiewicz Z. Cytometric assessment of DNA damage in relation to cell cycle phase and apoptosis. *Cell Proliferation*. **2005**;38(4):223–43. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2005.00344.x>
681. Gong X, Yang SY, Wang ZY, Tang M. The role of hypoxic microenvironment in autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*. **2024**;15:1435306. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1435306>
682. Xiao ZX, Miller JS, Zheng SG. An updated advance of autoantibodies in autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*. **2021**;20(2):102743. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102743>

683. Weißenberg SY, Szelinski F, Schrezenmeier E, Stefanski AL, Wiedemann A, Rincon-Arevalo H, Welle A, Jungmann A, et al. Identification and characterization of post-activated B cells in systemic autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*. **2019**;10:2136. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02136>
684. Ugolkov Y, Nikitich A, Leon C, Helmlinger G, Peskov K, Sokolov V, Volkova A. Mathematical modeling in autoimmune diseases: from theory to clinical application. *Frontiers in Immunology*. **2024**;15:1371620. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1371620>
685. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *Journal of Internal Medicine*. **2015**;278(4):369–95. DOI: <https://doi.org/10.1111/joim.12395>
686. Fugger L, Jensen LT, Rossjohn J. Challenges, progress, and prospects of developing therapies to treat autoimmune diseases. *Cell*. **2020**;181(1):63–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.007>
687. Balogh L, Olah K, Santa S, Majerhoffer N, Nemeth T. Novel and potential future therapeutic options in systemic autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*. **2024**;15:1249500. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1249500>
688. Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK. Mechanisms of human autoimmunity. *Journal of Clinical Investigation*. **2015**;125(6):2228–33. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI78088>
689. Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. *Nature Immunology*. **2017**;18(7):716–24. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.3731>
690. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, Kavanaugh A, McInnes IB, et al. Rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Disease Primers*. **2018**;4:18001. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.1>

691. Kaul A, Gordon C, Crow MK, Touma Z, Urowitz MB, van Vollenhoven R, Ruiz-Irastorza G, Hughes G. Systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews Disease Primers*. **2016**;2:16039. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.39>.
692. Hileman CO, Malakooti SK, Patil N, Singer NG, McComsey GA. New-onset autoimmune disease after COVID-19. *Frontiers in Immunology*. **2024**;15:1337406. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1337406>
693. Gracia-Ramos AE, Martin-Nares E, Hernandez-Molina G. New onset of autoimmune diseases following COVID-19 diagnosis. *Cells*. **2021**;10(12):3592. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10123592>
694. Winchester N, Calabrese C, Calabrese LH. The intersection of COVID-19 and autoimmunity: what is our current understanding? *Pathogens and Immunity*. **2021**;6(1):31–54. DOI: <https://doi.org/10.20411/pai.v6i1.417>
695. Smatti MK, Cyprian FS, Nasrallah GK, Al Thani AA, Almishal RO, Yassine HM. Viruses and autoimmunity: a review on the potential interaction and molecular mechanisms. *Viruses*. **2019**;11(8):762. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11080762>
696. Toussirost É, Bereau M. Vaccination and induction of autoimmune diseases. *Inflammation and Allergy Drug Targets*. **2015**;14(2):94–8. DOI: <https://doi.org/10.2174/1871528114666160105113046>
697. Zhao M, Zhai H, Li H, Wei F, Ma H, Liu Y, Li W, Wei P. Age-standardized incidence, prevalence, and mortality rates of autoimmune diseases in adolescents and young adults (15–39 years): an analysis based on the global burden of disease study 2021. *BMC Public Health*. **2024**;24(1):1800. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-024-19290-3>
698. Ursini F, Ruscitti P, Addimanda O, Foti R, Raimondo V, Murdaca G, Caira V, Pigatto E, et al. Inflammatory rheumatic diseases with onset after SARS-CoV-2 infection or COVID-19 vaccination: a report of 267 cases from the COVID-19 and ASD group. *RMD Open*. **2023**;9(2):e003022. DOI: <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2023-003022>

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus та/або Web of Science Core Collection

1. Гладких ФВ. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. *Клінічна та профілактична медицина*. 2023;6(28):121–130. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>. (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
2. Гладких ФВ. Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артриту: від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2023;11(4):326–36. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336). Режим доступу: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/387> (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
3. Гладких ФВ. Безклітинні біологічні засоби: фокус на кондиціоновані середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Одеський медичний журнал*. 2023;185(4):75–82. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15>. Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/65> (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
4. Гладких ФВ. Роль аутоімунних процесів при демієлінізуючих захворюваннях нервової системи: фокус на розсіяний склероз. *Міжнародний неврологічний журнал*. 2023;19(7):223–32. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.7.2023.1026>. Режим доступу: <https://inj.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/1026> (Видання

- категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
5. **Гладких ФВ.** Імунопатологічні аспекти етіопатогенезу міокардиту. *Український кардіологічний журнал.* **2024**;31(1):103–12. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>. Режим доступу: <https://www.ucardioj.com.ua/index.php/UJC/article/view/354> (Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
6. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Аналгетичний потенціал кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. *Одеський медичний журнал.* **2024**;186(1):35–41. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-1-6>. Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/83> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
7. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Соловійов СО.** Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосуванні кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Клінічна та профілактична медицина.* **2024**;7(37):24–37. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.7.2024.03>. Режим доступу: <https://cp-medical.com/index.php/journal/article/view/470> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту

статті; Соловійов С.О. – участь в обговоренні отриманих результатів, консультування при проведенні протокової ДНЦ-цитометрії. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

8. **Гладких ФВ.** Оцінка впливу кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та кріоекстрактів біологічних тканин на прояви цитолітичного синдрому при експериментальному аутоімунному гепатиті. *Одеський медичний журнал.* **2024**;6(191):45–50. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8>. Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/172> (Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
9. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на рівень протизапальних та регуляторних цитокінів при експериментальному аутоімунному артриті. *Східноукраїнський медичний журнал.* **2024**;12(4):937–45. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12\(4\):937-945](https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12(4):937-945). Режим доступу: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/711/375> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
10. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Чиж МО.** Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. *Український кардіологічний журнал.* **2024**;31(6):35–46. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>. Режим доступу: <https://ucardioj.com.ua/index.php/UJC/article/view/386> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень,

статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті, Чижа М.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

11. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ. Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(3):275–89. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-01>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/67> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
12. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ. Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(4):521–34. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/94>. (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного

тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

13. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ. Стан NO-ергічного гомеостазу при експериментальному аутоімунному гломерулонефриті на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Нирки*. 2024;13(3):203–12. DOI: <https://doi.org/10.22141/2307-1257.13.3.2024.465>. Режим доступу: <https://kidneys.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/465> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
14. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ. Ефективність безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при аутоімунному артриті за даними гематологічних змін. *Україна. Здоров'я нації*. 2024;2(76):55–60. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.2/09>. Режим доступу: <https://journals.uzhnu.uz.ua/index.php/health/article/view/979> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
15. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ. Експериментальне вивчення нефропротекторних властивостей кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин при аутоімунній мембранозній нефропатії. *Україна. Здоров'я*

нації. 2024;3(77):106–14. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.3/17>. Режим доступу:

<https://journals.uzhnu.uz.ua/index.php/health/article/view/1049> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

16. **Гладких ФВ.** Оцінка орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Психіатрія, неврологія та медична психологія.* 2024;11(2(24)):124–37. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/pnmp/article/view/24> (Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
17. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Матвеєнко МС.** Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Психіатрія, неврологія та медична психологія.* 2024;11(4):361–378. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-26-02>. Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/pnmp/article/view/102> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь у зборі даних та інтерпретації отриманих результатів, участь у написанні тексту статті, редагування рукопису; Матвеєнко М.С. – підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів. Видання категорії Б. Входить до міжнародної

наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

18. **Hladkykh FV**, Liadova TI, Komorovsky RR. Cell-free cryopreserved biological agents for cardiac protection in autoimmune myocarditis: a morphofunctional study. *Scripta Medica*. 2025; 6(2):233–43. DOI: <https://doi.org/10.5937/scriptamed56-56858>. Режим доступу: <https://aseestant.ceon.rs/index.php/scriptamed/article/view/56858> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті, Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті). Фахове видання Боснії та Герцеговини. Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
19. **Hladkykh FV**, Liadova TI, Matvieienko MS, Karafulidi OV, Komorovsky RR. Advances in cardioprotective strategies: bridging traditional pharmacotherapy and regenerative medicine. *Scripta Medica*. 2025;56(3):521–35. DOI: <https://10.5937/scriptamed56-58719>. Режим доступу: <https://aseestant.ceon.rs/index.php/scriptamed/article/view/58719/28168> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: підбір літературних джерел, редагування основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Матвієєнко М.С. – підбір літературних джерел, редагування основного тексту; Карафуліді О.С. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Фахове видання Боснії та Герцеговини. Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України

20. **Гладких ФВ.** Сучасний концепт участі тиреоїдних антигенів та цитокінів у імунопатогенезі аутоімунного тиреоїдиту. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2023;4(84):22–31. DOI: <https://doi.org/10.30978/CEES-2023-4-22>. Режим доступу: <http://jcees.endocenter.kiev.ua/article/view/294328> Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
21. **Гладких ФВ.** Перспективи застосування імуномодуляторів у лікуванні хворих на аутоімунних захворювань: фокус на екстракти біологічних тканин (кріоекстракт плаценти та кріоекстракт селезінки). *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2023;4:29–46. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>. Режим доступу: <https://immunology.org.ua/index.php/journal/article/view/109/83> (Видання категорії Б).
22. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Порівняльна характеристика антифлогістичної активності кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного артриту. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина»*. 2024;1(69):53–9. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.69.9>. Режим доступу: <https://med-visnyk.uzhnu.uz.ua/index.php/med/article/view/290> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).
23. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у щурів зі змодельованим ад'ювантом Фрейнда артритом. *Health & Education*. 2024;1:32–40. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4>. Режим

доступу: <https://journals.medacad.rivne.ua/index.php/health-education/article/view/109> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

24. **Гладких ФВ.** Біохімічна оцінка активності запального процесу під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного артриту у щурів. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я.* **2024**;1(15):8–12. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-1>. Режим доступу: <https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/3169/3611> (Видання категорії Б).
25. **Гладких ФВ.** Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. *Health & Education.* **2024**;2:23–30. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4>. Режим доступу: <https://journals.medacad.rivne.ua/index.php/health-education/article/view/144> (Видання категорії Б).
26. **Гладких ФВ, Лядова ТІ.** Дослідження впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на рівень прозапальних цитокінів при експериментальному аутоімунному артриті. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* **2024**;2:28–37. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2024.2-04>. Режим доступу: <https://immunology.org.ua/index.php/journal/article/view/125> (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавтора Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

27. **Гладких ФВ.** Динаміка неврологічного дефіциту у щурів зі змодельованим еквівалентом розсіяного склерозу під впливом кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Актуальні проблеми профілактичної медицини.* **2024**;27:19–28. DOI: <https://doi.org/10.32782/2786-9067-2024-27-3>. Режим доступу: <https://journals.meduni.lviv.ua/index.php/appm/article/view/121> (Видання категорії Б).
28. **Гладких ФВ.** Функціональний стан нирок при експериментальному нефриті Хеймана на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я.* **2024**;2(16):13–23. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-2-2>. Режим доступу: <https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/4369> (Видання категорії Б).
29. **Гладких ФВ.** Імунопатогенез мембранозної нефропатії та перспективи біологічної терапії: підводні камені та перли (огляд). *Актуальні проблеми транспортної медицини.* **2024**;3(77):11–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820820>. Режим доступу: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/1094> (Видання категорії Б).
30. **Гладких ФВ.** Імунні порушення при аутоімунному гепатиті: роль аутоантитіл, Т-рег клітин та новітні терапевтичні підходи. *Буковинський медичний вісник.* **2024**;28(3):76–82. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.3.111.2024.13>. Режим доступу: <http://e-bmv.bsmu.edu.ua/article/view/313609> (Видання категорії Б).
31. **Гладких ФВ.** Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина».* **2024**;2(70):29–34. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.70>. Режим доступу: <https://med-visnyk.uzhnu.uz.ua/index.php/med/issue/view/13> (Видання категорії Б).

32. **Гладких ФВ.** Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосування кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Health & Education*. **2024**;3:12–21. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.3.2>. Режим доступу: <https://journals.medacad.rivne.ua/index.php/health-education/article/view/180> (Видання категорії Б).
33. **Гладких ФВ.** Білковосинтезуюча функція печінки при аутоімунному гепатиті: оцінка впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів в експерименті. *Здоров'я суспільства*. **2024**;13(1):20–8. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.13.1.2024.318>. Режим доступу: <https://nuozu.kyiv.ua/index.php/health-society/article/view/14> (Видання категорії Б).
34. **Гладких ФВ.** Оцінка рівня імуноглобулінів А, М і G на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. **2024**;4(88):36–43. DOI: <http://doi.org/10.30978/CEES-2024-4-36>. Режим доступу: <http://jcees.endocenter.kiev.ua/article/view/319595> Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
35. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвєєнко МС, Коморовський РР.** Порівняльна характеристика морфофункціонального стану серця при застосуванні кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на моделі аутоімунного міокардиту за даними ультразвукового дослідження. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2024**;4(18):27–36. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-4-4>. Режим доступу: <https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/4621> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір

літературних джерел, редагування тексту статті; Чижа М.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

36. **Гладких ФВ**, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвєєнко МС, Коморовський РР. Ехокардіографічна оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки на функціональний стан міокарда при експериментальному аутоімунному міокардиті. *Здоров'я суспільства*. 2024;14(2):16–24. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.14.2.2024.314>. Режим доступу: <https://nuozu.kyiv.ua/index.php/health-society/article/view/19> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Чижа М.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Матвєєнко М.С. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

Наукові праці, які засвідчують апробацію дисертації

37. **Гладких ФВ**. Характеристика пігментного обміну на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. 2024;16(2):258–61. DOI: <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.02.258>. Режим доступу: <https://journals.chnu.edu.ua/biosystems/article/view/645> (Видання

категорії Б. Наукові читання «Актуальні питання сучасної біохімії крізь призму часу»; 31 жовтня 2024; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України).

38. **Гладких ФВ.** Оцінка ефективності застосування кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артрити. *Матеріали 93-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині та фармації»*; 28–30 березня 2024; Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; **2024**, с. 242. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964105>
39. **Гладких ФВ.** Динаміка неврологічного дефіциту на тлі застосування кріоекстрактів селезінки та плаценти при експериментальному алергічному енцефаломієліті. *Матеріали XXVIII конгресу студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»*; 8–10 квітня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 45. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10972506>
40. **Гладких ФВ.** Вміст простагландину E2 на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при ад'ювантному артриті у щурів. *Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині»*; 21–22 березня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2024**, с. 133–4. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964176>
41. **Гладких ФВ.** Вплив кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на м'язовий тонус у щурів з ад'ювант-індукованим експериментальним розсіяним склерозом. *Матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*; 22 березня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2024**, с. 198–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10964238>
42. **Гладких ФВ.** Порівняльна характеристика супраспінального компоненту антиноцицептивної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного артрити. *Матеріали XXI Міжнародної наукової конференції студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»*; 18–

- 19 квітня 2024; Харків: Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України; 2024, с. 77–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10987152>
43. **Гладких ФВ.** Оцінка впливу безклітинних біологічних засобів на інтенсивність запального процесу за вмістом лейкотрієну В4. *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку»*; 9–12 квітня 2024; Одеса: Одеський національний університет імені І.І. Мечникова МОН України; 2024, с. 329–31. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10987593>
44. **Гладких ФВ.** Стан антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах серця на тлі введення кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному аутоімунному міокардиті. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Молодіжна наука – 2024»*; 17 травня 2024; Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 2024, с. 28–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12093412>
45. **Гладких ФВ.** Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на окремі біохімічні показники крові при експериментальному аутоімунному артриті. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «Перспективи та інновації у науці молодих вчених в умовах військового часу»*; 23 травня 2024; Харків: Державна установа «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» та ін.; 2024, с. 14–5. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12093618>
46. **Гладких ФВ.** Порівняльна характеристика нефротропної дії безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів за показниками функціональної активності нирок на моделі активного аутоімунного нефриту. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія»*; 23–24 жовтня 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет України МОЗ України; 2024, с. 54–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14051834>
47. **Гладких ФВ.** Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у нирках щурів при

- аутоімунному нефриті Хеймана. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України»*; 24–25 жовтня 2024; Київ: Державна установа «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМН України» та ін.; **2024**, с. 96–97. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.13998585>
48. **Гладких ФВ.** Вплив безклітинних біотехнологічних препаратів на клітинний цикл гепатоцитів на моделі аутоімунного гепатиту. *Матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»*; 17–18 жовтня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; **2024**, с. 132–3. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14049866>
49. **Гладких ФВ.** Порівняльна оцінка впливу кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на білковосинтезуючу функцію печінки на моделі аутоімунного гепатиту. *Матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*; 14 листопада 2024; Харків: Національний фармацевтичний університет України МОЗ України; **2024**, с. 128–9. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14547640>
50. **Гладких ФВ.** Характеристика синтезу білка при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі введення кондиціонованого середовища мезехімальних стовбурових клітин. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку»*; 12–14 грудня 2024 р.; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України; **2024**, с. 47–50. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14941003>
51. **Гладких ФВ.** Оцінка гепатопротекторних властивостей безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів за інтенсивністю цитолітичного синдрому. *Збірник матеріалів I науково-практичної конференції «Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень»*; 3–4 грудня 2024 р.; Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; **2024**, с. 154–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14563056>

52. **Hladkykh FV.** Thyroprotective properties of conditioned medium from mesenchymal stem cells in experimental autoimmune thyroiditis. *The 5th International scientific-theoretical conference "Modern vision of implementing innovations in scientific studies"*; February 14, 2025; Marseille **(France)**: European Scientific Platform; **2025**, p. 247–50. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14870581>
53. **Hladkykh FV.** Therapeutic potential of conditioned media from mesenchymal stem cells in regulating NO production in kidney disease. *Materials of the 4th International scientific-practical conference "Science in motion: classic and modern tools and methods in scientific investigations"*; February 21, 2025; Vinnytsia-Vienna **(Austria)**: International Centre Corporative Management & European Scientific Platform; **2025**, p. 1190–2. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14913939>
54. **Hladkykh FV.** Study of the therapeutic effects of placenta and spleen cryoextracts in an autoimmune thyroiditis model: changes in hormonal balance. *Materials of the VIII International scientific and practical conference "Theoretical and empirical scientific research: concept and trends"*; March 7 2025; Oxford **(United Kingdom)**: Oxford Sciences LTD & European Scientific Platform; **2025**, p. 361–3. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.078>
55. **Гладких ФВ.** Відновлення скоротливості міокарда за допомогою кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин в умовах експериментального аутоімунного міокардиту. *Матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»*; 15 травня 2025 р.; Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2025**, с. 108–110. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15504630>
56. **Гладких ФВ.** Експериментальне дослідження терапевтичного потенціалу кріоекстрактів при аутоімунному ураженні міокарда. *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Харків. Інновації у медицині: сучасні виклики та розвиток науки молодими вченими в умовах військового часу»*; 15–16 травня 2025 р.; Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» та ін.; **2025**, с. 14. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15658766>

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації

57. **Гладких ФВ.** Ревматоїдний артрит: імунологічні механізми, системні ускладнення та новітні терапевтичні стратегії. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 360 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.6>
58. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Красносельський МВ, Матвеєнко МС, Рубльова ТВ, Рудас ІА.** Мультиמודальність нейропротекції при черепно-мозкових травмах та неврологічних захворюваннях. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 264 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.2>
59. **Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Коморовський РР, Бабаєва ГГ, Матвеєнко МС.** Кардіоселективність кріобіотехнологічних засобів у терапії серцево-судинних захворювань. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 376 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>
60. **Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО.** Гепатопротекція: інноваційні стратегії та клінічні перспективи біотехнологічних підходів. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2025**. 176 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.1>
61. **Чиж МО, Гальченко СЄ, Гладких ФВ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Белочкіна ІВ, Слета ІВ.** Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби: технологія отримання та визначення складу. *Монографія*. Вінниця: Твори; **2024**. 264 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2024.1>
62. **Чиж МО, Гальченко СЄ, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Беспалова ІГ, Белочкіна ІВ, Слета ІВ, Матвеєнко МС, Кошурба ІВ, Глоба ВЮ.** Метаболічні, регенеративні та імунологічні властивості водно-сольових екстрактів кріоконсервованих тканин. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 304 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.5>
63. **Гладких ФВ, Кошурба ІВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвеєнко МС.** Ульцерогенність: стратегії превенції та новітні підходи до лікування виразкової хвороби шлунка. *Монографія*. Вінниця: Твори, **2025**. 208 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.3>
64. **Гладких ФВ.** Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(3):414–439 DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>

Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/76>
(Видання категорії А. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

65. **Гладких ФВ**, Белочкіна ІВ, Кошурба ІВ, Чиж МО. Сучасна гепатопротекція: наративний огляд існуючих підходів та перспективи використання біотехнологічних препаратів. *Сучасні медичні технології*. 2023;3(58):58–65. DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.3\(58\).2023.9](https://doi.org/10.34287/MMT.3(58).2023.9).
Режим доступу: <https://medtech.mphu.edu.ua/article/view/295884>
(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: збір даних, аналіз та інтерпретація даних, редагування статті. Внесок співавторів: Белочкіної І.В. – збір, аналіз та інтерпретація даних; Кошурби І.В. – концепція та дизайн дослідження, збір, аналіз та інтерпретація даних, написання статті; Чиж М.О. – збір даних, редагування та остаточне затвердження статті. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
66. **Гладких Ф.В.** Лізис клітин циклами «заморожуванням-відтаювання» – перспективний підхід до створення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів – кріоекстрактів фрагментів органів ссавців. Матеріали Х науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»; 17–18 жовтня 2024; Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України; 2024, с. 162–4. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14049968>
67. **Гладких ФВ.** Аутозапальний синдром, індукований ад’ювантами: імунопатогенез та новітні терапевтичні стратегії. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку»*; 12–14 грудня 2024 р.; Чернівці: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України; 2024, с. 53–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14941177>

АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 93 науково-практична конференція із міжнародною участю «Інновації в медицині та фармації» (28–30 березня 2024 р., **м. Івано-Франківськ**, Україна) – публікація тез;
2. XXVIII конгрес «Майбутнє за наукою» (8–10 квітня 2024 р., **м. Тернопіль**, Україна) – публікація тез;
3. VII Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині» (21–22 березня 2024 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез;
4. IV Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (22 березня 2024 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез;
5. XXI Міжнародна наукова конференція «Актуальні питання сучасної медицини» (18–19 квітня 2024 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез;
6. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку» (9–12 квітня 2024 р., **м. Одеса**, Україна) – публікація тез;
7. Науково-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю «Молодіжна наука – 2024» (17 травня 2024 р., **м. Вінниця**, Україна) – публікація тез;
8. Науково-практична конференція молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки «Перспективи та інновації у науці молодих вчених в умовах військового часу» (23 травня 2024 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез;
9. Міжнародна науково-практична конференція «Експериментальна та клінічна фармакологія» (23–24 жовтня 2024 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез та усна доповідь;
10. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України» (24–25 жовтня 2024 р., **м. Київ**, Україна) – публікація тез та усна доповідь;
11. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення

- лікарських препаратів» (17–18 жовтня 2024 р., **м. Тернопіль**, Україна) – публікація тез;
12. Наукові читання «Актуальні питання сучасної біохімії крізь призму часу» (31 жовтня 2024 р., **м. Чернівці**, Україна) – публікація статті у фаховому виданні категорії Б за спеціальністю «09 – Біологія» та усна доповідь;
 13. VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (14 листопада 2024 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез;
 14. III Міжнародна науково-практична конференція «Молодіжна наука заради миру та розвитку» (12–14 грудня 2024 р., **м. Чернівці**, Україна) – публікація тез;
 15. I науково-практична конференція «Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень» (3–4 грудня 2024 р., **м. Вінниця**, Україна) – публікація тез;
 16. The 5th International scientific-theoretical conference "Modern vision of implementing innovations in scientific studies" (February 14, 2025; **Marseille, France**) – публікація тез;
 17. 4th International scientific-practical conference "Science in motion: classic and modern tools and methods in scientific investigations" (February 21, 2025; **Vinnitsia-Vienna, Austria**) – публікація тез;
 18. VIII International scientific and practical conference "Theoretical and empirical scientific research: concept and trends" (March 7, 2025; **Oxford, United Kingdom**) – публікація тез.
 19. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (15 травня 2025 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез;
 20. Науково-практична конференція молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Харків. Інновації у медицині: сучасні виклики та розвиток науки молодими вченими в умовах військового часу» (15–16 травня 2025 р., **м. Харків**, Україна) – публікація тез.

ДОДАТОК Б

ПЕРЕЛІК РИСУНКІВ

№ з/п	Номер	Назва	Стор.
1	1.1.1	Механізми, задіяні в ініціації та прогресії РА.....	66
2	1.2.1	Поширеність РС у світі за даними on-line атласу міжнародної федерації РС.....	77
3	1.2.2	Фази перебігу РС.....	78
4	1.2.3	Імунологічний каскад РС.....	81
5	1.3.1	Локалізація та фізіологічна функція тиреоїдних антигенів у тиреоцитах.....	90
6	1.3.2	Патогенез АІЗ-ЩЗ.....	92
7	1.4.1	Пластичність хелперних CD4+ Т-клітин.....	104
8	1.5.1	Схема будови нефрон та просторова модель подоцита.	110
9	1.5.2	Активация комплементу та фази МН.....	113
10	1.6.1	Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при АІГ.....	122
11	1.6.2	Взаємодія між Т-reg та іншими клітинами при АІГ.....	125
12	1.7.1	Найпоширеніші джерела клітин та отримання КС.....	150
13	1.7.2	Біогенез різних форм екстрацелюлярних везикул з еукаріотичної клітини.....	152
14	2.1	Дизайн експериментального дослідження.....	168
15	3.1	Динаміка вмісту циркулюючих цитокінів при розвитку ревматоїдного артриту.....	211
16	4.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та метилпреднізолону на значення лактат-піруватного співвідношення в гомогенатах головного мозку щурів з АЕМ.....	236
17	4.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та метилпреднізолону на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах головного мозку щурів з АЕМ.....	242
18	6.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на ЧСС щурів з АІМ.....	266

19	6.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на масу міокарда лівого шлуночка (ММ ЛШ) щурів з АІМ.....	276
20	6.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на відносну товщину стінки ЛШ (ВТС) щурів з АІМ.....	277
21	7.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на ШКФ за Besseling P.J. у щурів з АІН.....	292
22	7.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст метаболітів NO в крові щурів з АІН.....	302
23	8.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення коефіцієнт де Рітіса (АсАт / АлАт) у сироватці крові щурів з АІГ.....	312
24	8.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність γ -ГТП у сироватці крові щурів з АІГ.....	313
25	8.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність ЛФ у сироватці крові щурів з АІГ.....	314
26	8.4	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення альбумін-глобулінового співвідношення у крові щурів з АІГ.....	318
27	8.5	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки щурів з АІГ.....	321
28	8.6	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах печінки щурів з АІГ.....	325
29	8.7	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на фрагментацію ядерної ДНК гепатоцитів щурів з АІГ...	329
30	8.8	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення проліферативного індексу гепатоцитів щурів з АІГ.....	330
31	9.1	Структура проведеного дослідження ефективності БКБЗ при АІГ.....	338
32	9.2	Патогенетичні механізми терапевтичної дії БКБЗ при експериментальному РА.....	344

33	9.3	Складові нейропротекторного ефекту БКБЗ при АЕМ	349
34	9.4	Тиреотропні ефекту БКБЗ при АІТ.....	353
35	9.5	Патогенетичні ланки кардіопротективної активності БКБЗ при АІМ.....	357
36	9.6	Механізми нефропротективної активності БКБЗ при АІГ.....	360
37	9.7	Провідні механізми гепатопротективної активності БКБЗ при АІГ.....	366
38	9.8	Патогенетичні механізми терапевтичної дії БКБЗ при АІЗ.....	370

ДОДАТОК В

ПЕРЕЛІК ТАБЛИЦЬ

№ з/п	Номер	Назва	Стор.
1	1.3.1	Роль цитокінів/хемокінів у патогенезі хвороби Грейвса.....	94
2	1.4.1	Узагальнення характеристики імунних клітин, залучених до розвитку міокардиту.....	106
3	1.5.4	Характеристика антигенів при МН.....	114
4	1.6.1	Антитіла при АІГ.....	123
5	1.7.1	Класифікація імуномодуляторів за типом дії.....	128
6	1.7.2	Класифікація імуномодуляторів за походженням.....	132
7	1.7.3	Характеристика складу екстрацелюлярних везикул....	153
8	1.7.4	Переваги та недоліки КС порівняно з трансплантацією клітин.....	154
9	2.1	Розподіл експериментальних тварин та тривалість досліджень.....	161
10	2.2	Фармацевтична характеристика компонентів розчину для І етапу одержання КЕП.....	164
11	2.3	Дозовий режим та стандартизація використаних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів..	167
12	2.4	Узагальнена фармацевтична характеристика всіх використаних у роботі референс-препаратів.....	180
13	2.5	Методики дослідження механізмів аналгетичної дії за рівнями реалізації антиноцицептивної дії.....	182
14	2.6	Характеристика фаз клітинного циклу.....	186
15	2.7	Формули для розрахунку морфометричних показників ЛШ.....	187
16	2.8	Показники скоротливої функції міокарда ЛШ.....	187

17	2.9	Матриця гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень на моделях АІЗ у лабораторних тварин.....	188
18	2.10	Методики гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень.....	189
19	3.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на величину набряку кінцівки у щурів з АА в динаміці.....	199
20	3.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на ПБЧ при механічному подразненні за Рендаллом-Селітто у щурів з АА в динаміці.....	201
21	3.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА в динаміці.....	203
22	3.4	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на гематологічні показники щурів з АА на 28 день експерименту.....	205
23	3.5	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на біохімічні показники щурів з АА на 28 день експерименту.....	207
24	3.6	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст простагландину Е2, тромбоксану В2 та лейкотрієну В4 у сироватці крові щурів з АА на 28 день експерименту	209
25	3.7	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів з АА на 28 день експерименту.....	212
26	3.8	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст протизапальних цитокінів у сироватці крові щурів з АА на 28 день експеримент.....	215
27	4.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та МП на м'язовий тонус у щурів з АЕМ в динаміці.....	221
28	4.2	Вплив КС-МСК, КЕС та МП на рухову активність щурів з АЕМ у тесті «відкрите поле» в динаміці.....	224

29	4.3	Вплив КС-МСК, КЕС та МП на дослідницьку активність щурів з АЕМ у тесті «відкрите поле» в динаміці.....	226
30	4.4	Вплив КС-МСК, КЕС та МП на емоційну активність щурів з АЕМ у тесті «відкрите поле» в динаміці.....	228
31	4.5	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та МП на вміст лактату, пірувату та малату у тканинах головного мозку щурів з АЕМ на 22 день експерименту.....	230
32	4.6	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та МП на вміст аденілових нуклеотидів у тканинах головного мозку щурів з АЕМ на 52 день експерименту.....	239
33	5.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень антитіл (АТ) до тиреогобуліну (ТГ) у сироватці крові щурів з АІТ в динаміці.....	248
34	5.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень трийодтирніну (Т3) у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту.....	250
35	5.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень тироксину (Т4) у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту.....	253
36	5.4	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень імуноглобулінів (Ig) А, М та G у сироватці крові щурів з АІТ на 28 день експерименту.....	257
37	6.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на діаметри лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту.....	268
38	6.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на розміри стінок лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту.....	270
39	6.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на об'ємні показники серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту.....	273

40	6.4	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту.....	279
41	6.5	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та кордарону на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту.....	284
42	7.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на окремі показники видільної функції нирок у щурів з АІН на 70 день експерименту.....	290
43	7.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст креатиніну в крові і сечі та його кліренс у щурів з АІН на 70 день експерименту.....	295
44	7.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст білка в крові та інтенсивність протеїнурії у щурів з АІН на 70 день експерименту.....	297
45	7.4	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст простагландину Е2, тромбоксану В2 та лейкотрієну В4 у тканинах нирок щурів з АІН на 70 день експерименту.....	299
46	7.5	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на активність NO-синтаз у тканинах нирок щурів з АІН на 70 день експерименту.....	301
47	8.1	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на концентрацію білірубіну в сироватці крові щурів з АІГ на 52 день експерименту.....	308
48	8.2	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів з АІГ на 52 день експерименту.....	311

49	8.3	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на показники білкового гомеостазу в сироватці крові щурів з АІГ на 52 день експерименту.....	316
50	8.4	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на біохімічні показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах печінки щурів з АІГ на 52 день експерименту.....	320
51	8.5	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на вміст аденілових нуклеотидів у тканинах печінки щурів з АІГ на 52 день експерименту.....	324
52	8.6	Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на клітинний цикл гепатоцитів щурів з АІГ на 52 день експерименту	327
53	9.1	Протизапальна та знеболююча активність безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів та ДН на моделі АА у щурів.....	339
54	9.2	Узагальнена кількісна характеристика факторів нейропротективної активності БКБЗ при АЕМ.....	346
55	9.3	Баланс імуноглобулінів на тлі введення БКБЗ при АІГ	352
56	9.4	Узагальнена кількісна морфофункціональна оцінка кардіопротективної активності БКБЗ при АІМ за даними ультразвукової ехокардіографії.....	354

ДОДАТОК Г

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

СПИСОК УСТАНОВ, ЯКІ ВПРОВАДИЛИ РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ

1. Національний університет охорони здоров'я ім. П.Л. Шупика МОЗ України (*Акт впровадження від 02.01.2025 р., протокол № 1*);
2. Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України (*Акт впровадження від 30.12.2024 р., протокол № 6*);
3. Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України (*Акт впровадження від 01.01.2025 р., протокол № 1*);
4. Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 03.01.2025 р., протокол № 63*);
5. Полтавський державний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 03.01.2025 р., протокол № 10*);
6. Дніпровський державний медичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 17.01.2025 р., протокол № 10*);
7. Національний фармацевтичний університет МОЗ України (*Акт впровадження від 19.12.2024 р., протокол № 9*);
8. Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України (*Акт впровадження від 08.01.2025 р., протокол № 1*);
9. Одеський національний університет імені І.І. Мечникова МОН України (*Акт впровадження від 03.01.2025 р., протокол № 5*);
10. Ужгородський національний університет МОН України (*Акт впровадження від 20.01.2025 р., протокол № 6*);

- 11.Державне некомерційне підприємство «Інститут серця МОЗ України»
(Акт впровадження від 27.01.2025 р., протокол № 1);
- 12.Український науково-дослідний інститут медицини транспорту
МОЗ України (Акт впровадження від 05.02.2025 р., протокол № 2);
- 13.Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
НАМН України (Акт впровадження від 30.01.2025 р., протокол № 1/1);
- 14.Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології
ім. С.П. Григор'єва НАМН України» (Акт впровадження від
13.01.2025 р., протокол № 1);
- 15.КНП «Харківська міська поліклініка № 10 Харківської міської ради»
(Акт впровадження від 30.01.2025 р., протокол № 1);
- 16.Сумський державний університет МОН України (Акт впровадження
від 07.01.2025 р., протокол № 7);
- 17.Буковинський державний медичний університет МОЗ України (Акт
впровадження від 28.01.2025 р., протокол № 10; Акт впровадження від
22.04.2025 р., протокол № 8);
- 18.Запорізький державний медико-фармацевтичний університет
МОЗ України (Акт впровадження від 20.01.2025 р., протокол № 10).



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор НУОЗ України

імені П.Л. Шупика

Проректор НАМН України

Професор Вдовиченко Ю.П.

« 02 » січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з тиретропною активністю при аутоімунних ураженнях щитоподібної залози.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка рівня окремих імуноглобулінів на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2024;4(88):36–43.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(4(51)). DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу кафедри фармації.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації:**

Протокол № 1 від « 02 » січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації
 НУОЗ України імені П.Л. Шупика
 доктор фармацевтичних наук,
 старший дослідник

С.О. Соловійов

«ПОГОДЖЕНО»

Проректор ЗВО Вінницького
національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
з науково-педагогічної та
лікувальної роботи



Василь ПОГОРІЛИЙ

“28” сентя 2025 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО Вінницького
національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
з науково-педагогічної та
навчальної роботи



Інна АНДРУШКО

“28” сентя 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва роботи: застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату з нейропротективною активністю при аутоімунних ураженнях головного мозку.

Установа-розробник: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022);

Автори: PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.

Джерела інформації:

1. Гладких Ф.В. Оцінка орієнтовно-дослідницької активності шурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2024;11(2(24)):124–37.

2. Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Матвеєнко М.С. Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку шурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2024;11(4(26)).

Назва кафедри (підрозділу), де відбулось впровадження: кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова

Актуальність дослідження: В даний час основною метою досліджень аутоімунних хвороб є пошук більш ефективних підходів до їх лікування. Існуючі методи терапії можуть полегшити лише деякі аутоімунні симптоми, але не мають специфічності, і їх потрібно призначати на тривалий період. Сучасним стандартом

лікування більшості аутоімунних захворювань є імуносупресивні препарати, такі як кортикостероїди. Імунодепресантам притаманні побічні ефекти, включаючи ризик важких інфекцій та потенціювання раку. Біопрепарати, зазвичай антитіла, спрямовані на конкретний компонент імунної системи, лише починають використовуватися для лікування певних груп пацієнтів з аутоімунними захворюваннями. Це багатообіцяючий крок до більш безпечної терапії, однак ефективність біологічних препаратів ще вивчається. Ендогенні імуномодулятори – це олігопептиди, що активують імунну систему за рахунок посилення проліферації та стимуляції функції імунних клітин. Використання низьких температур у процесі переробки біологічної сировини сприяє повнішому руйнуванню клітин та їх мембран і, зрештою, виходу у розчин біологічно активних речовин. Серед тканин ксеногенного походження у якості потенційного джерела імуномодельюючих похідних особливу увагу дослідників привертає селезінка, що обумовлено зосередженістю у ній 25% Т-клітин та 65% В-клітин від загального пулу лімфоцитів в організмі.

Форма впровадження: теоретичний матеріал, тестовий контроль в методичних рекомендаціях для підготовки до практичних занять з дисципліни «Побічна дія ліків» для студентів 4 курсу медичного факультету та «Клінічна фармація та фармацевтична опіка» для студентів 5 курсу фармацевтичного факультету.

Суть впровадження: комплекс освітніх заходів, скерованих на підвищення знань з питань клінічної фармації імуномодуляторів та нейропротекторів, інноваційних біотехнологічних препаратів для лікування аутоімунних захворювань, впроваджених в освітній процес кафедри, використовується на практичних заняттях зі студентами медичного та фармацевтичного факультетів.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 6 від 30.12.2024р

Зауваження та пропозиції: не вносились

Початок впровадження: січень 2025р.

Ефект від впровадження: використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань.

Відповідальний за впровадження: Завідувач кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології, доцент ЗВО Святослав СЕМЕНЕНКО

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи Тернопільського
національного медичного університету ім. І.Я.
Горбачевського
д.біол.н., професор Іван КЛИЦ

„16” січня 2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту плаценти, як біотехнологічного препарату тиретропною активністю при аутоімунних ураженнях щитоподібної залози.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка рівня окремих імуноглобулінів на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2024;4(88):36–43.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(4(51)). DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** кафедра патологічної фізіології. Протокол № 1 від «9» січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри патологічної
фізіології Тернопільського
національного медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського, доктор
медичних наук, професор

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Ольга ДЕНЕФІЛЬ

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи ІФНМУ
професор Сергій ГЕРАЩЕНКО

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату з гепатопротективною активністю при аутоімунних ураженнях печінки.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Соловйов СО. Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосуванні кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Клінічна та профілактична медицина. 2024;7(37):24–37.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(3):275–89.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Івано-Франківський національний медичний університет (вул. Галицька, 2, М. Івано-Франківськ, Україна, 76018)
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Назва кафедри: Кафедра мікробіології, вірусології та імунології
Протокол № 63 від « 03 » січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри, д.мед.н., професор

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

КУЦИК Роман

Володимирович

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
Полтавського державного медичного
університету
доктор медичних наук, професор

Валентин ДВОРНИК

« 9 » січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту плаценти, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при аутоімунних ураженнях серця.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. Health & Education. 2024;2:23–30.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Чиж МО. Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. Український кардіологічний журнал. 2024;31(6):35–46.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Полтавський державний медичний університет.
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології Полтавського державного медичного університету, протокол № 10 від « 3 » січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології,
д.мед.н., проф.

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Луценко Р.В.
(Прізвище Ім'я та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Дніпровського державного медичного
університету
доцент

Сергій ЗАХАРОВ



_____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень в науковий та навчальний процес

1. Найменування пропозиції для впровадження: застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату тиретропною активністю при аутоімунних ураженнях щитоподібної залози.

2. Автори: доктор філософії Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.

3. Установа-розробник, його поштова адреса: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).

4. Джерела інформації:

1. Гладких Ф. В. Оцінка рівня окремих імуноглобулінів на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2024;4(88):36–43.
2. Гладких Ф. В., Лядова Т. І. Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(4(51)). DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>.

5. Базова установа, в якій здійснено впровадження:

6. Термін впровадження: впродовж 2025 р.

7. Форма впровадження пропозиції: у наукову та навчальну роботу.

8. Результати впровадження: використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.

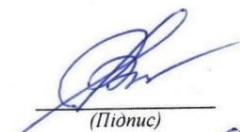
9. Зауваження, пропозиції: не вносились.

10. Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу: кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації.

Протокол № 10 від « 17 » січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри фармакології,
загальної та клінічної фармації
Дніпропетровського державного медичного
університету, д.мед.н., професор


(Підпис)





«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи НФаУ

Проф. І.М. Владимірова

«13» грудня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при автоімунних ураженнях серця.
2. **Автори:** PhD в галузі охорони здоров'я Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі автоімунного міокардиту. Health & Education. 2024;2:23–30.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Чиж МО. Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. Український кардіологічний журнал. 2024;31(6):35–46.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:**
Назва закладу/установи: Національний фармацевтичний університет (НФаУ)
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування автоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Назва кафедри/відділу/лабораторії: кафедра фармакології та клінічної фармації
Протокол № 9 від «19» грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., проф.

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Л.В.Деримедвідь

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

Харківського національного університету

імені В. Н. Каразіна

Антон ПАМТЕЛЕЙМОНОВ



СРМ

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату з гепатопротективною активністю при аутоімунних ураженнях печінки.
2. **Установа, її адреса, автори:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022). Доктор філософії, доц. Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Соловйов СО. Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосуванні кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Клінічна та профілактична медицина. 2024;7(37):24–37.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(3):275–89.
4. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** в науково-педагогічний процес кафедри внутрішньої медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.
5. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
6. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
7. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.

Завідувач кафедри внутрішньої медицини,
д.мед.н., професор

Тетяна ТИХОНОВА

Декан медичного факультету, д.мед.н., професор

Тетяна ЛЯДОВА



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

Одеського національного університету

ім. І.І. Мечникова

Майя НІКОЛАЄВА

«29» січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при аутоімунних ураженнях серця.
2. **Автори:** PhD доц. Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких Ф.В. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. Health & Education. 2024;2:23–30.
 2. Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Коморовський Р.Р., Чиж М.О. Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. Український кардіологічний журнал. 2024;31(6):35–46.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засіданні структурного підрозділу:** Кафедра фармакології та технології ліків
Протокол № 5 від « 3 » січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри

фармакології та технології ліків,

д.мед.н., професор

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Олександр НЕФЬОДОВ

(Ім'я, прізвище.)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Ужгородський національний
університет»
професор Іван МИРОНЮК
« 28 » 09 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату з протизапальною та знеболюючою активністю при ревматоїдному артриті.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Порівняльна характеристика антифлогістичної активності кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного артриту. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2024;1(69):53–9.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Аналгетичний потенціал кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. Одеський медичний журнал. 2024;186(1):35–41.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Кафедра біохімії та фармакології
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** Кафедра біохімії та фармакології
Протокол № 6 від «20» січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри біохімії та
фармакології, доц., к.мед.н.

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Лариса РОСТОКА

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. генерального директора
ДНП «Інститут серця МОЗ України»
член-кореспондент НАМН України
професор

Голубов Б.М.
«03» лютого 2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при аутоімунних ураженнях серця.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Характеристика впливу безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. Health & Education. 2024;2:23–30.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Чиж МО. Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. Український кардіологічний журнал. 2024;31(6):35–46.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Відділ діагностики патології серця та магістральних судин ДНП «Інститут серця МОЗ України»
6. **Термін впровадження:** впродовж січня 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** Відділ діагностики патології серця та магістральних судин
Протокол №1 від «27»січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач відділу діагностики патології
серця та магістральних судин
д.мед.н., професор

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

О.А. Єпанчінцева

(Прізвище Ім'я та По-батькові)



Директор ДП УНДІ МТ МОЗ України
доктор медичних наук, професор,
Заслужений діяч науки і техніки України
ГОЖЕНКО Анатолій
« 10 » лютого 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату з нефропротективною активністю при аутоімунних ураженнях нирок.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2024;2(70):29–34.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Стан NO-ергічного гомеостазу при експериментальному аутоімунному гломерулонефриті на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Нирки. 2024;13(3):203–12.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Клінічного відділу
Протокол № 2 від « 05 » 02 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Заступник директора з наукової та
лікувально-профілактичної роботи к. мед. н.

Анатолій АНЧЕВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ДУ «Інститут фармакології
та токсикології НАМН України»

ОСІЯЦЬОВСЬКИЙ

«04» 02



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з протизапальною та знеболюючою активністю при ревматоїдному артриті.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Порівняльна характеристика антифлогістичної активності кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного артриту. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2024;1(69):53–9.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Аналгетичний потенціал кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. Одеський медичний журнал. 2024;186(1):35–41.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** відділ фармакології/ лабораторія фармакології ефекторних органів та систем

Протокол № 1/1 від «30» січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

зав. відділом фармакології, д.мед.н.

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Серединська Наталія
Миколаївна

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

ЗАТВЕРДЖУЮ



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з тиретропною активністю при аутоімунних ураженнях щитоподібної залози.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ, Оцінка рівня окремих імуноглобулінів на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2024;4(88):36–43.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(4(51)). DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07>.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** Відділ радіології ДУ «ІМРО ім. С.П. Григор'єва НАМН України»
Протокол № 1 від 13.01.2025 р.
Відповідальний за впровадження: лікар-радіолог, PhD Наталія ПІДЧЕНКО

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Медичний директор
 КНП «Міська поліклініка №10» ХМР
 Світлана КОВАЛЬОВА
 (керівник установи, в якій проведено
 впровадження, печатка)
 « 30 » _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з нейропротективною активністю при аутоімунних ураженнях головного мозку.
2. **Ким пропонується:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
3. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2024;11(2(24)):124–37.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Матвєєнко МС. Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2024;11(4(26)).
4. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Комунальне некомерційне підприємство «Міська поліклініка №10» ХМР
5. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
6. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та лікувальну роботу.
7. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Лікар-онколог

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)


 (Підпис)

Чиж Микола Олексійович

(Прізвище Ім'я та По-батькові)



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту плаценти, як біотехнологічного препарату з нейропротективною активністю при аутоімунних ураженнях головного мозку.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2024;11(2(24)):124–37.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Матвєєнко МС. Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2024;11(4(26)).
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** кафедра педіатрії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету.
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** кафедри педіатрії

Протокол №7 від «07» січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри педіатрії,
д. мед. н., професор

О.І. Сміян

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного медичного
університету
доц. ХОДОРОВСЬКИЙ В. М.



« 11 » 02 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту селезінки, як біотехнологічного препарату з нефропротективною активністю при аутоімунних ураженнях нирок.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2024;2(70):29–34.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Стан NO-ергічного гомеостазу при експериментальному аутоімунному гломерулонефриті на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Нирки. 2024;13(3):203–12.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Буковинський державний медичний університет.
6. **Термін впровадження:** впродовж 2024–2025 н.р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та в освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** На кафедрі фармакології Буковинського державного медичного університету.

Протокол № 10 від «28» січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології,
д.мед.н., проф.

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)



(Підпис)

ЗАМОРСЬКИЙ
Ігор Іванович

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
Буковинського державного медичного
університету з науково-педагогічної роботи
Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ

25 "березня" 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин, як біотехнологічного препарату з гепатопротективною активністю при аутоімунних ураженнях печінки.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Соловійов СО. Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті на тлі застосуванні кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Клінічна та профілактична медицина. 2024;7(37):24–37.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024;32(3):275–89.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:**
Назва закладу/установи: Буковинський державний медичний університет
6. **Термін впровадження:** впродовж березня – квітня 2025 р.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у навчальний процес.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено в навчальний процес під час проведення практичних занять з теми «Біохімія печінки».
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Назва кафедри/відділу/лабораторії: кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Буковинського державного медичного університету
Протокол № 8 від «22» квітня 2025 р.

Відповідальний за впровадження: PhD, доцент Єлена Ференчук

Завідувач кафедри біоорганічної і
біологічної хімії та клінічної біохімії
Буковинського державного медичного
університету, к. біол. наук, доцент



Надія ГРИГОР'ЄВА



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Запорізького
державного медико-фармацевтичного університету
МОЗ України
професор Валерій ТУМАНСЬКИЙ
«27» _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – кріоекстракту плаценти, як біотехнологічного препарату з нефропротективною активністю при аутоімунних ураженнях нирок.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., д. мед. н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022).
4. **Джерела інформації:**
 1. Гладких ФВ. Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2024;2(70):29–34.
 2. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Стан NO-ергічного гомеостазу при експериментальному аутоімунному гломерулонефриті на тлі застосування безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. Нирки. 2024;13(3):203–12.
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:**
6. Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України
7. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
8. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
9. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування аутоімунних захворювань. Результати впроваджено при проведенні в науковій діяльності лабораторії клітинних культур та біоінжинірингу ЗДМФУ на кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології
10. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
11. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології
Протокол № 10 від «20» січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідуюча кафедрою патологічної
фізіології з курсом нормальної
фізіології, д.мед.н., професор

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)


(Підпис)

Ольга ГАНЧЕВА

(Прізвище Ім'я та По-батькові)