

УДК 616.127-002-071+615.361+615.324+576.5

DOI <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4>

## ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ НА АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ У ТКАНИНАХ СЕРЦЯ НА МОДЕЛІ АУТОІМУННОГО МІОКАРДИТУ

**Гладких Федір Володимирович,**  
доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина»,  
старший науковий співробітник  
Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва  
Національної академії медичних наук України»;  
докторант медичного факультету  
Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна  
ORCID: 0000-0001-7924-4048

*Міокардит є однією з основних причин гострої та хронічної серцевої недостатності, несприятливого ремоделювання шлуночків і прогресування дилатаційної кардіоміопатії, небезпечних для життя аритмій і раптової серцевої смерті. Аутоімунний міокардит (АІМ) може виникнути як ізольований стан, в якому основним (і зазвичай єдиним) органом-мішенню є серце. Основними терапевтичними підходами до лікування хворих на АІМ сьогодні виступають імунносупресивна та протівірусна терапія.*

*Мета роботи – охарактеризувати вплив кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС), а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця за аутоімунного міокардиту в щурів.*

*Експериментальні дослідження проведено на 42 щурах-самцях масою 200–220 г у відповідності до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації. АІМ моделювали за методикою Г.П. Павленко. Безклітинні біологічні засоби вводили внутрішньом'язово (в/м), з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 14, 17, 20, 23 та 26-й дні експерименту. У ролі референс-препарату вибрано інгібітор реполяризації міокарда з а та β-блокувальною дією – кордарон у дозі 10 мг/кг. На 28-й день експерименту тварин виводили з експерименту, екстирпували серце з грудної клітки та визначали вміст реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП) й активність каталази в гомогенаті.*

*Дослідження показало, що на 28-й день експерименту в щурів зі змодельованим АІМ відмічалась активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), на що вказувало статистично вірогідне ( $p < 0,001$ ) підвищення вмісту ТБК-РП у тканинах міокарда на 56,9% відносно показників інтактних щурів, що становило, відповідно,  $16,2 \pm 0,9$  мкмоль/кг тканини. Гіперактивація ПОЛ у тканинах міокарда на тлі АІМ супроводжувалась виснаженням компенсаторних механізмів, на що вказувало зниження активності каталази на 34,2% відносно показників інтактних тварин. Введення досліджуваних безклітинних біологічних засобів 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. За значенням вмісту ТБК-РП відносно показників нелікованих тварин досліджувані біологічні препарати можна розташувати в такій послідовності: КС-МСК (32,7%) > КЕС (29,2%) > КЕП (23,9%). Найвиразніші антиоксидантні властивості відзначено на тлі введення КС-МСК. Так, активність каталази в щурів з АІМ, яким вводили КС-МСК, статистично вірогідно ( $p = 0,03$ ) зросла на 40,0% відносно показників тварин контрольної групи і становила  $2,5 \pm 0,2$  мкат/кг тканини. Інтегральне оцінювання антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу в тканинах серця на моделі АІМ показало, що досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби за виразністю зростання антиоксидантно-прооксидантного індексу відносно показників тварин контрольної групи (АІМ без лікування) можна розташувати в такій послідовності: КС-МСК (+100,0%) > КЕП (+65,7%) > КЕС (+49,9%).*

**Ключові слова:** аутоімунні захворювання, аутоімунний міокардит, кріоекстракт плаценти, кріоекстракт селезінки, кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин.

### **Fedir Hladkykh. Characterization of the effect of cell-free cryopreserved biological agents on antioxidant-prooxidant homeostasis in heart tissues in a model of autoimmune myocarditis**

*Myocarditis is one of the main causes of acute and chronic heart failure, adverse ventricular remodeling and progression of dilated cardiomyopathy, life-threatening arrhythmias, and sudden cardiac death. Autoimmune myocarditis (AIM) can occur as an isolated condition in which the heart is the main (and usually the only) target organ. Immunosuppressive and antiviral therapy are currently the main therapeutic approaches to the treatment of patients with AMI.*

The aim of the work is to characterize the effect of cryoextract of the placenta (CEP), cryoextract of the spleen (CES), as well as the conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM) on antioxidant-prooxidant homeostasis in heart tissues with autoimmune myocarditis in rats.

Experimental studies were conducted on 42 male shuras weighing 200–220 g in accordance with the basic bioethical norms of the Helsinki Declaration of the World Medical Association. AIM was modeled according to the method of Pavlenko H.P. Cell-free biological agents were administered intramuscularly (in/m), with an interval of 2 days (a total of 5 injections), respectively, on days 14, 17, 20, 23 and 26 of the experiment. Cordarone, a myocardial repolarization inhibitor with  $\alpha$  and  $\beta$ -blocking action at a dose of 10 mg/kg, was chosen as a reference drug. On the 28th day of the experiment, the animals were removed from the experiment, the heart was excised from the chest, and the content of reactants with 2-thiobarbituric acid (TBA-RP) and catalase activity in the homogenate were determined.

The study showed that on the 28th day of the experiment in rats with simulated AIM, activation of lipid peroxidation (LPO) was noted, which was indicated by a statistically significant ( $p < 0.001$ ) increase in the content of TBA-RP in myocardial tissues by 56.9% compared to the indicators of intact rats, which was  $16.2 \pm 0.9 \mu\text{mol/kg}$  tissue, respectively. Hyperactivation of LPO in myocardial tissues and the background of AIM was accompanied by exhaustion of compensatory mechanisms, which was indicated by a decrease in catalase activity by 34.2% compared to the parameters of intact animals. The introduction of the studied cell-free biological agents led to a statistically significant decrease in the content of TBA-RP in the myocardial tissues of rats with simulated AIM, which exceeded the reference drug cordarone in terms of effectiveness, the studied indicator against the background of which application decreased by 12.4% compared to the indicators of untreated animals. According to the value of TBA-RP content relative to the parameters of untreated animals, the studied biological preparations can be placed in the following order: MSC-CM (32.7%) > CES (29.2%) > CEP (23.9%). The most pronounced antioxidant properties were noted against the background of the introduction of MSC-CM. Thus, the activity of catalase in rats with AIM injected with KS-MSC statistically significantly ( $p = 0.03$ ) increased by 40.0% compared to the indicators of animals of the control group and amounted to  $2.5 \pm 0.2 \mu\text{cat/kg}$  of tissue. An integral assessment of antioxidant-prooxidant homeostasis in heart tissues on the AIM model showed that the studied cell-free cryopreserved biological agents can be arranged in the following sequence according to the expressiveness of the increase in the antioxidant-prooxidant index relative to the indicators of animals of the control group (AMI without treatment): MSC-CM (+100.0%) > CEP (+65.7%) > CES (+49.9%).

**Key words:** autoimmune diseases, autoimmune myocarditis, placenta cryoextract, spleen cryoextract, conditioned medium of mesenchymal stem cells.

**Вступ.** 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 [1]. Міокардит є однією з основних причин гострої та хронічної серцевої недостатності, несприятливого ремоделювання шлуночків і прогресування дилатаційної кардіоміопатії, небезпечних для життя аритмій і раптової серцевої смерті [2].

Аутоімунний міокардит (далі – АІМ) може виникнути як ізольована патологія, в якій основним (і зазвичай єдиним) органом-мішенню є серце. Як правило, це гігантоклітинний міокардит і деякі випадки еозинофільного міокардиту, не пов'язаного з периферичною гіпереозинофілією. Крім того, деякі системні аутоімунні захворювання можуть вражати тканини серця, породжуючи міокардит у контексті більш широкого аутоімунного явища. Захворюванням, найбільш сильно пов'язаним із розвитком міокардиту, є системний червоний вовчак, але воно також може виникнути у зв'язку з синдромом Шегрена, васкулітом або поліміозитом [3].

Важливо зауважити, що швидкість прогресування міокардиту до незворотного ураження тканини різна в залежності від етіології. З іншого боку, незважаючи на те, що причини, тригери та початкові імунологічні рушійні сили можуть бути різними, клінічні та гістологічні характеристики стадії дилатаційної кардіоміопатії подібні для всіх типів і причин міокардиту [4].

Аутоімунітет характеризується високою антигенспецифічною імунною відповіддю, але активація вродженої відповіді необхідна для стимуляції адаптивної відповіді. Його важливість у контексті АІМ була продемонстрована тим фактом, що експериментальні моделі вказаної патології вимагають використання коад'ювантів (наприклад, повного ад'юванта Фрейнда (ПАФ)) і неспецифічної стимуляції патогенно-асоційованими молекулярними структурами, що забезпечуються антигенами *Mycobacterium*. Важливо, що коад'ювантне зараження повинно здійснюватися одночасно з експозицією серцевих власних антигенів, щоб створити серцево-специфічний стійкий аутоімунітет [3].

Міокардит характеризується рекрутуванням прозапальних клітин у серцевому м'язі, апоптозом кардіоміоцитів і підвищенням вмісту активних форм кисню через гіперактивацію перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Клітини, рекруто-

вані імунною системою до міокарда, сприяють секреції факторів росту і цитокінів в інтерстиціальному та позаклітинному просторах. Зокрема, в багатьох роботах підкреслюється внесок імунних клітин, як-от моноцити або макрофаги та Т-лімфоцити, до серцево-судинних захворювань. Наприклад, клітини Th1 є основним джерелом прозапальних медіаторів IL-2, IFN- $\gamma$  і TNF- $\alpha$ , тоді як Th17 є основним джерелом IL-17. Це прозапальне макрооточення призводить до активації запальних сигналів, таких як TLRs і NF- $\kappa$ B, які посилюють ураження міокарда [5].

Основними терапевтичними підходами до лікування хворих на АІМ сьогодні виступають імуномодуляція (імуносупресія) та противірусна терапія [1]. Саме тому нашу увагу як потенційні високоактивні біопрепарати з імуномодельючими властивостями привернули безклітинні кріоекстракти селезінки (КЕС) та плаценти (КЕП), а також кондиціоноване середовище (КС) мезенхімальних стовбурових клітин (МСК).

**Мета дослідження** – охарактеризувати вплив кріоекстракту плаценти, кріоекстракту селезінки та кондиціонованого середовища МСК на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту.

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведено на 42 щурах-самцях масою 200–220 г у відповідності до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації. АІМ моделювали за методикою Г.П. Павленко [7] шляхом внутрішньочеревного (в/о) введення щурам кардіотропної антигенної суміші, яка складалась з ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенного 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-й дні експерименту) [8; 9; 10]. Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби вводили внутрішньом'язово (в/м), з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 14, 17, 20, 23 та 26-й дні експерименту. У ролі референс-препарату вибрано інгібітор реполяризації міокарда з  $\alpha$  та  $\beta$ -блокувальною дією – кордарон у дозі 10 мг/кг [10], який вводили в/м за аналогічною схемою.

Дослідження ефективності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів проведено на 42 щурах, рандомізованих на 6 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 2-й 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, 13 та 26-й 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, 13 та 26-й дні експерименту в/м вводили референс-препарат кордарон у дозі 10 мг/кг [10];

IV – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26-й дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [11];

V – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26-й дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [12];

VI – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26-й дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [13; 14].

На 28-й день експерименту тварин виводили з експерименту та екстирпували серце з грудної клітки. Для отримання гомогенату тканини серця промивали холодним (+4 °C) ізотонічним 1,15% розчином KCl та гомогенізували за 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину за співвідношення 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15% розчину KCl), отримуючи 10,0% гомогенат.

**Вміст реактивів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП)** у тканинах міокарда визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. за реакцією з тіобарбітуровою кислотою та розраховували за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням за довжини хвилі  $\lambda = 535$  нм, урахувавши коефіцієнт молярної екстинції забарвленого в червоний колір комплексу, який дорівнює  $1,56 \times 10^5$  моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> [15].

**Активність каталази** визначали спектрофотометрично за методом М.А. Королюк та співавторів за світлопоглинанням за довжини хвилі  $\lambda = 410$  нм. Метод ґрунтується на здатності каталази розкладати H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та утворювати стійкий комплекс жовтого кольору з амоній молібдатом (4,0% – 1,0 мл), який додають для зупинки реакції H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> з каталазою [16].

**Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ)** визначали за формулою: АПІ = (Активність каталази × 100) / Вміст ТБК-РП.

**Статистичне оброблення** одержаних результатів проведено з використанням при-

кладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel». Оцінювання характеру розподілу величин у кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілка. Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена. За нормального розподілу незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. Цифрові дані в разі нормального розподілу величин наведено у вигляді « $M \pm m$ » ( $M \pm SE$ ), де  $M$  – середнє арифметичне значення,  $m$  ( $SE$ ) – стандартна похибка середнього арифметичного, або  $M$  (95% ДІ:), де 95% ДІ: – 95% довірчий інтервал [17; 18; 19].

#### Результати дослідження та їх обговорення.

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 [5].

Дослідження показало, що на 28-й день експерименту в щурів зі змодельованим АІМ відзначалась 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. 1). Порушення окислювально-відновного гомеостазу спричинені накопиченням окислювальних молекул через надмірне виробництво 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. Будучи високореактивними сполуками, пероксиди ліпідів 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 [20].

Установлено, 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. 1). Каталаза є добре вивченим ферментом, який відіграє важливу роль у захисті клітин від токсичної дії перекису водню [21].

Зниження активності каталази та підвищення вмісту ТБК-РП призвели до статистично вірогід-

ного ( $p=0,03$ ) зниження значення АПІ на 59,3% відносно показників інтактних щурів, що становило, відповідно,  $11,4 \pm 1,5$  од. (див. табл. 1).

Введення досліджуваних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів 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. За здатністю пригнічувати ПОЛ у міокарді (за значенням вмісту ТБК-РП відносно показників нелікованих тварин) досліджувані біологічні препарати можна розташувати в такій послідовності: КС-МСК (32,7%) > КЕС (29,2%) > КЕП (23,9%).

Дослідження активності каталази в тканинах міокарда щурів з АІМ показало, що на 28-й день експерименту в щурів, яким вводили кордарон, та в щурів, яким вводили КЕП, відзначалось рівнозначне підвищення активності досліджуваного антиоксидантного ферменту на 20,0% відносно показників тварин контрольної групи (див. табл. 1). Введення КЕС проявляло нижчу здатність до підтримки активності каталази в тканинах міокарда. Найвиразніші антиоксидантні властивості відзначені на тлі введення КС-МСК. Так, активність каталази в 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. 1).

Отримані експериментальні дані узгоджуються з висновками R. Stavelly та співавторів (2020 р.), 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 й може запропонувати пояснення різноманітності моделей захворювань, що піддаються лікуванню за допомогою МСК, і того, як ці механізми можуть зберігатися між видами [22].

Інтегральне оцінювання антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу в тканинах серця на моделі АІМ показало, що досліджувані безклі-

Таблиця 1

**Вплив КЕЛ, КЕС, КС-МСК та кордарону на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця шурів з аутоімунним міокардитом на 28-й день експерименту (M ± m, 95 % ДІ, n=42)**

Умови експерименту						
Досліджувані показники, одиниці вимірювання	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
<b>n</b>	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 <sub>1</sub> <0,001 [56,9%]	14,1±1,2 (95 % ДІ: 11,9–16,4) p <sub>2</sub> =0,2 [12,4%]	12,3±1,1 (95 % ДІ: 10,2–14,4) p <sub>2</sub> <0,001 [23,9%] p <sub>3</sub> =0,2 [13,1%]	11,4±0,8 (95 % ДІ: 9,8–13,0) p <sub>2</sub> =0,002 [29,2%] p <sub>3</sub> =0,08 [19,2%]	10,9±0,7 (95 % ДІ: 9,5–12,2) p <sub>2</sub> <0,001 [32,7%] p <sub>3</sub> =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 <sub>1</sub> =0,1 [34,2%]	2,1±0,2 (95 % ДІ: 1,7–2,6) p <sub>2</sub> =0,3 [20,0%]	2,1±0,3 (95 % ДІ: 1,6–2,7) p <sub>2</sub> =0,1 [20,0%] p <sub>3</sub> =1 [0%]	2,0±0,3 (95 % ДІ: 1,4–2,6) p <sub>2</sub> =0,6 [12,0%] p <sub>3</sub> =0,7 [6,7%]	2,5±0,2 (95 % ДІ: 2,1–2,9) p <sub>2</sub> =0,03 [40,0%] p <sub>3</sub> =0,3 [16,7%]
Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АІІ)	28,0±6,0 (95 % ДІ: 16,3–39,8)	11,4±1,5 (95 % ДІ: 8,5–14,3) p <sub>1</sub> =0,03 [59,3%]	16,2±2,5 (95 % ДІ: 11,3–21,2) p <sub>2</sub> =0,1 [42,2%]	18,9±3,4 (95 % ДІ: 12,2–25,6) p <sub>2</sub> =0,1 [65,7%] p <sub>3</sub> =0,5 [16,5%]	17,1±2,0 (95 % ДІ: 13,1–21,1) p <sub>2</sub> =0,04 [49,9%] p <sub>3</sub> =0,8 [5,4%]	22,8±0,9 (95 % ДІ: 21,0–24,6) p <sub>2</sub> <0,001 [100%] p <sub>3</sub> =0,03 [40,6%]

*Примітки.* p<sub>1</sub> – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;

[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;

Індексами <sub>1, 2, 3</sub> вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

тинні кріоконсервовані біологічні засоби за виразністю зростання АПІ відносно показників тварин контрольної групи (АІМ без лікування) можна розташувати в такій послідовності: КС-МСК (+100,0%) > КЕП (+65,7%) > КЕС (+49,9%).

#### Висновки:

1. Моделювання аутоімунного міокардиту в 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% ( $p = 0,1$ ).

2. Застосування безклітинних біологічних засобів супроводжувалось відновленням функціонування антиоксидантної системи в тканинах

міокарда на тлі аутоімунного міокардиту. За значенням інтегрального показника стану антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу а 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 ( $16,2 \pm 2,5$ ).

**Перспективи подальших досліджень.** Дані про виразні антиоксидантні властивості досліджуваних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів у разі аутоімунного міокардиту в щурів є підґрунтям подальших поглиблених досліджень механізмів кардіопротективної активності вказаних засобів на моделі аутоімунного процесу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гладких Ф. В. Імунопатологічні аспекти етіопатогенезу міокардиту. Український кардіологічний журнал. 2024. № 31 (1). С. 103–12. <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>
2. Grzechocińska J., Tymińska A., Giordani A. S., Wysińska J., Ostrowska E., Baritussio A., Caforio A. L. P., Grabowski M., Marcolongo R., Ozierański, K. Immunosuppressive Therapy of Biopsy-Proven, Virus-Negative, Autoimmune/Immune-Mediated Myocarditis-Focus on Azathioprine: A Review of Existing Evidence and Future Perspectives. *Biology*. 2023. № 12 (3). P. 356. <https://doi.org/10.3390/biology12030356>.
3. Bracamonte-Baran, W., Čiháková, D. Cardiac Autoimmunity: Myocarditis. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017. № 1003. P. 187–221. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-57613-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-57613-8_10).
4. Root-Bernstein R., Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of theoretical biology*. 2015. № 375. P. 101–123. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>.
5. 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). P. 1507. <https://doi.org/10.3390/antiox12081507>.
6. Стефанов О. В., ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена. 2001. 527 с.
7. Pavlenko H. P. 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.
8. Fontes J. A., Barin J. G., Talor M. V., Stickel N., Schaub J., Rose N. R., 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). P. 163–176. <https://doi.org/10.1002/iid3.155>.
9. Root-Bernstein R., Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology*. 2015. № 375. P. 101–123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>
10. Джигалюк О. В., Степанюк Г. І., Заїчко Н. В., Коваленко С. І., Шабельник К. П. 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). С. 16–22. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7249>.
11. Шепітько В. І. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів: дис. ... док. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, 2004. 326 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/>.
12. Беспалова І. Г. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят: дис. ... канд. біол. н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія, Харків, 2016. 162 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/>.
13. Golubinskaya P. A., Sarycheva M. V., Dolzhikov A. A., Bondarev V. P., Stefanova M. S., Soldatov V. O., Nadezhdin S. V., Korokin M. V., 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). P. 416–425. <https://doi.org/10.1916/3/2307-9266-2020-8-6-416-425>.
14. Глоба В. Ю. Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції. спец. 222 – Медицина, Харків, 2021. 156 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/>
15. Asakawa T., Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980. № 15 (3). P. 137–140.
16. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984. № 105. P. 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3).

17. Zar J. H. *Biostatistical analysis* (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. 2014; 960 p.
18. Tripathy J. P. Secondary data analysis: ethical issues and challenges. *Iranian Journal of Public Health*. 2013. № 42 (12). P. 1478–1479.
19. 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). P. 157–163.
20. Gaschler M. M., Stockwell B. R. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications*. 2017. № 482 (3). P. 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>.
21. Kodydková J., Vávrová L., Kocík M., Žák, A. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia biologica*. 2014. № 60 (4). P. 153–167.
22. Stavely R., Nurgali, K. The emerging antioxidant paradigm of mesenchymal stem cell therapy. *Stem cells translational medicine*. 2020. № 9 (9). P. 985–1006. <https://doi.org/10.1002/sctm.19-0446>.

## REFERENCES

1. Hladkykh, F. V. (2024). Immunopatohichni aspekty etiopatohenezu miokardytu [Immunopathological aspects of etiopathogenesis of myocarditis]. *Ukrainian Journal of Cardiology*, 2024, 31 (1), 103–112, <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112> [In Ukrainian].
2. Grzechocińska, J., Tymińska, A., Giordani, A. S., Wyśńska, J., Ostrowska, E., Baritussio, A., Caforio, A. L. P., Grabowski, M., Marcolongo, R., & Ozierański, K. (2023). Immunosuppressive Therapy of Biopsy-Proven, Virus-Negative, Autoimmune/Immune-Mediated Myocarditis-Focus on Azathioprine: A Review of Existing Evidence and Future Perspectives. *Biology*, 12(3), 356. <https://doi.org/10.3390/biology12030356>.
3. Bracamonte-Baran, W., & Čiháková, D. (2017). Cardiac Autoimmunity: Myocarditis. *Advances in experimental medicine and biology*, 1003, 187–221. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-57613-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-57613-8_10).
4. Root-Bernstein, R., & Fairweather, D. (2015). Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of theoretical biology*, 375, 101–123. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>.
5. 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. (2023). Modulation of TLR4/NFκB Pathways in Autoimmune Myocarditis. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(8), 1507. <https://doi.org/10.3390/antiox12081507>.
6. Stefanov, O. V, ed. *Doklinichni doslizhennia likarskykh zasobiv [Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations]*. Kyiv: Avicenna. 2001, 527 p. [In Ukrainian].
7. 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.
8. Fontes, J.A., Barin, J.G., Talor, M.V., Stickel, N., Schaub, J., Rose, N.R. & Cihakova, D. (2017). Complete Freund's adjuvant induces experimental autoimmune myocarditis by enhancing IL-6 production during initiation of the immune response. *Immunity, Inflammation and Disease*, 5(2),163–176. DOI: <https://doi.org/10.1002/iid3.155>.
9. Root-Bernstein, R., Fairweather, D. (2015). Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology*, 375, 101–123. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>.
10. Dzhigalyuk, O.V., Stepaniuk, G.I., Zaichko, N.V., Kovalenko, S.I., Shabelnyk, K.P. (2016). Kharakterystyka vplyvu 4-[4-okso-4H-khinazolin-3-il] benzoinoi kysloty (PK-66) na perebih adrenalinovoi miokardiodystrofii v shchuriv za danymy biokhimichnykh doslidzhen [Characteristics of the effect of 4-[4-oxo-4H-quinazolin-3-yl] benzoic acid (PK-66) on the course of epinephrine myocardiodystrophy in rats according to biochemical studies. *Medical and clinical chemistry*. *Medical and clinical chemistry*, 18(4), 16-22. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7249> [In Ukrainian].
11. Shepitko, V. I. (2004). Strukturno-funktsionalni pokaznyky kriokonservovanoi pechinky i vplyv yii transplantatsii na morfofunktsionalnyi stan riadu vnutrishnikh orhaniv [Structural and functional indicators of the cryopreserved liver and the effect of its transplantation on the morphofunctional state of a number of internal organs: dissertation]. *Doctor of Medicine: special. 14.01.35 – Cryomedicine*, Kharkiv, 326 p. <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/> [In Ukrainian].
12. Bepalova, I. G. (2016). Peptydnyi sklad ta biolohichna diia ekstraktiv kriokonservovanykh frahmentiv selezinky svynei ta shkiry porosiat [Peptide composition and biological action of extracts of cryopreserved pig spleen fragments and piglet skin]: thesis. *biol. n.: in specialty 03.00.19 – Cryobiology*, Kharkiv, 162 p. <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/> [In Ukrainian].
13. Golubinskaya, P. A., Sarycheva, M. V., Dolzhikov, A. A., Bondarev, V. P., Stefanova, M. S., Soldatov, V. O., Nadezhdin, S. V., Korokin, M. V., et al. (2020). Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology*, 8 (6), 416–425. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>.
14. Globa, V. Yu. (2021). Zastosuvannia kriokonservovanykh kultur klityn ta neirotrofichnykh faktoriv pry eksperymentalnii infravezikalnii obstruktsii [Use of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction]. *Thesis in specialty 222 – Medicine*, Kharkiv, 156 p. <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/> [In Ukrainian].
15. Asakawa, T., Matsushita, S. (1980). Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*, 15 (3), 137–140.
16. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3).
17. Zar, J. H. (2014). *Biostatistical analysis* (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood, 960 p.

18. Tripathy, J. P. (2013). Secondary data analysis: ethical issues and challenges. *Iranian Journal of Public Health*, 42 (12), 1478–1479.
19. Yan, F., Robert, M, Li Y. (2017). Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 9 (5), 157–163.
20. Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications*, 482(3), 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
21. Kodydková, J., Vávrová, L., Kocík, M., & Žák, A. (2014). Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia biologica*, 60(4), 153–167.
22. Stavely, R., & Nurgali, K. (2020). The emerging antioxidant paradigm of mesenchymal stem cell therapy. *Stem cells translational medicine*, 9(9), 985–1006. <https://doi.org/10.1002/sctm.19-0446>.