Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 4(51). С. 521–534
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(4(51)):521–534

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07
УДК: 616.441-002-071+616-092.9+632.938+615.324+615.832.98+576.5

Оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті

Гладких Ф.В.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Лядова Т.І.[1], https://orcid.org/0000-0002-5892-2599, e-mail: t.lyadova@karazin.ua

[1]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Evaluation of the effect of placental and spleen cryoextracts, and conditioned medium of mesenchymal stem cells, on thyroid hormone synthesis in experimental autoimmune thyroiditis

Hladkykh F.V.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Liadova T.I.[1], https://orcid.org/0000-0002-5892-2599, e-mail: t.lyadova@karazin.ua

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

щитоподібна залоза, тироксин, трийодтиронін, аутоімунний тиреоїдит, левотироксин, імуноферментний аналіз, плацента, селезінка, мезенхімальні стовбурові клітини.

Для кореспонденції:

Гладких Федір Володимирович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», відділ променевої патології та паліативної медицини;
вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) є найпоширенішими ендокринними розладами, які уражують понад 10% дорослого населення. Найпоширенішими формами аутоімунних захворювань (АІЗ) ЩЗ є хвороба Грейвса та тиреоїдит Хашимото. Стандартом лікування гіпотиреозу є відновлення рівня тиреоїдних гормонів з метою нормалізації їх вмісту у тканинах. Нашу увагу привернуло вивчення ефективності застосування біотехнологічних препаратів, які не містять клітин, підданих дії низьких температур при їх отриманні або при тривалому зберігання.

Мета роботи – охарактеризувати вплив кріоекстрактів плаценти (КЕП) та селезінки (КЕС), а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті (АІТ).

Матеріали та методи. АІТ моделювали шляхом введення щурам тиреоїдної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванту Фрейнда та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної ЩЗ у співвідношенні 1:1. Дослідження проведені на 42 шурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп. Вміст Т3 та Т4 визначали на 28-й день експерименту імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу.

Результати та їх обговорення. Дослідження впливу L-тироксину, КЕП, КЕС та КС-МСК на рівень тиреоїдних гормонів у щурів з АІТ показало значні зміни в рівнях Т3 та Т4 у сироватці крові. Встановлено, що на тлі розвитку АІТ у контрольній групі відбулося статистично значуще ($p < 0,001$) підвищення рівня загального Т3 на 72,0% порівняно з інтактними щурами. Після терапії різні препарати показали різний рівень впливу на гормональний фон. L-тироксин ефективно нормалізував рівень вільного Т3 та Т4, знижаючи їх на 30,3% ($p < 0,001$) та 30,8% ($p < 0,001$) відповідно. Введення КЕП, КЕС та КС-МСК різною мірою сприяло зниженню рівнів гормонів.

Висновки. Розвиток АІТ у щурів спричиняє порушення метаболізму тиреоїдних гормонів, що проявляється у підвищенні рівнів загального та вільного Т3 і Т4. Усі досліджувані біологічні препарати приводять до виразнішої, ніж L-тироксин, нормалізації рівня загального Т3. Підвищений рівень загального Т4 найбільше знизився на тлі введення КЕП, а рівень вільного Т4 найбільше знизився на тлі введення КС-МСК.

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 4(51). С. 521–534
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(4(51)):521–534

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Для цитування:

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. Т. 32. № 4(51). С. 521–534. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07

Key words:

jthyroid, thyroxine, triiodothyronine, autoimmune thyroiditis, levothyroxine, enzyme immunoassay, placenta, spleen, mesenchymal stem cells.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine;
82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

ABSTRACT

Background. Thyroid diseases (TD) are the most common endocrine disorders, affecting more than 10% of the adult population. The most prevalent forms of autoimmune thyroid diseases (AITD) are Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. The standard treatment for hypothyroidism involves restoring thyroid hormone levels to normalize their concentration in tissues. Our attention was drawn to the study of the efficacy of biotechnology drugs that do not contain cells subjected to low-temperature treatment during their production or prolonged storage.
Purpose – the aim of the study was to characterize the impact of placental cryoextract (CEP), spleen cryoextract (CES), and conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM), on thyroid hormone synthesis in experimental autoimmune thyroiditis (AIT).
Materials and Methods. AIT was modeled by injecting rats with a thyroid antigenic mixture consisting of Freund's complete adjuvant and an antigen solution derived from the homogenate of allogeneic thyroid tissue in a 1:1 ratio. The study was conducted on 42 male rats weighing 200–220 g, randomly assigned to 6 groups. The levels of T3 and T4 were determined on day 28 of the experiment using an enzyme immunoassay (ELISA) method with standard ELISA kits.
Results. The study of the impact of L-thyroxine, CEP, CES, and MSC-CM on thyroid hormone levels in rats with AIT showed significant changes in T3 and T4 levels in serum. It was found that in the AIT group, there was a statistically significant ($p < 0.001$) increase in total T3 levels by 72.0% compared to the intact rats. After treatment, different drugs showed varying levels of effect on the hormonal profile. L-thyroxine effectively normalized the levels of free T3 and T4, reducing them by 30.3% ($p < 0.001$) and 30.8% ($p < 0.001$), respectively. The introduction of CEP, CES, and MSC-CM contributed to a reduction in hormone levels to varying degrees.
Conclusions. The development of AIT in rats causes disturbances in thyroid hormone metabolism, manifesting as an increase in total and free T3 and T4 levels. All studied biological preparations led to a more pronounced normalization of total T3 levels than L-thyroxine. The highest reduction in total T4 levels occurred with the introduction of CEP, while the greatest reduction in free T4 levels occurred with the administration of MSC-CM.

For citation:

Hladkykh FV, Liadova TI. Evaluation of the effect of placental and spleen cryoextracts, and conditioned medium of mesenchymal stem cells, on thyroid hormone synthesis in experimental autoimmune thyroiditis. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(4(51)):521–534. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-51-07

ВСТУП

Захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) є найпоширенішими ендокринними розладами, які уражують понад 10% дорослого населення [1]. Тиреоїдит є клінічним станом, що викликає особливе занепокоєння через множинність його форм. Основою його розвитку можуть бути аутоімунні фактори, запальні чинники, медикаментозні явища або фіброзний процес [2].

До аутоімунних захворювань (АІЗ) ЩЗ належать імуноопосередковані розлади, що впливають на функцію ЩЗ, і діагностуються за наявністю аутоантитіл проти тиреоїдних антигенів, таких як антитіла до тиреоглобуліну та тиреоїдні мікросомальні антитіла [2, 4]. Найпоширенішими типами АІЗ ЩЗ є хвороба Грейвса та тиреоїдит Хашимото, аутоімунні реакції при АІЗ ЩЗ являють собою два протилежні патогенетичні процеси та клінічні результати. При хворобі Грейвса

INTRODUCTION

Diseases of the thyroid gland (TG) are the most common endocrine disorders, affecting more than 10% of the adult population [1]. Thyroiditis is a clinical condition that causes particular concern due to the variety of its forms. Its development may be based on autoimmune factors, inflammatory causes, medication-related phenomena, or a fibrotic process [2].

Autoimmune thyroid diseases (AITD) include immune-mediated disorders that affect the function of the thyroid gland and are diagnosed by the presence of autoantibodies against thyroid antigens, such as antibodies to thyroglobulin and thyroid microsomal antibodies [2, 4]. The most common types of AITD are Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis, with autoimmune reactions in AITD representing two opposing pathogenic processes and clinical outcomes. In Graves'

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

активовані Т-клітини CD4+ спонукають В-клітини виділяти тиреотропні імуноглобуліни проти рецептора тиреотропного гормону, що призводить до необмеженого вироблення гормонів ЩЗ та гіпертиреозу. У випадку 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 і тиреоїдні специфічні цитотоксичні Т-лімфоцити вважаються відповідальними за аутоімунне виснаження тироцитів [4, 5].

Тиреоїдит Хашимото є найпоширенішим АІЗ ЩЗ та провідною причиною гіпотиреозу в регіонах, де достатньо йоду. Приблизно 20–30% пацієнтів страждають на тиреоїдит Хашимото, причиною якого вважається поєднання генетичної сприйнятливості та факторів навколишнього середовища, що спричиняє втрату імунологічної толерантності з подальшою аутоімунною агресією на тканину ЩЗ [6].

Тиреоїдні гормони, а саме вільний трийодтиронін (Т3) та вільний тироксин (Т4), відіграють важливу роль у гомеостазі людини, оскільки необхідні для росту, розвитку нейронів, відтворення та регуляції енергетичного обміну, починаючи з внутрішньоутробного життя, а рецептори до тиреоїдних гормонів є всюдисущими [1].

Основними секреторними продуктами ЩЗ, як відомо, є неактивний тироксин (Т4), трийодтиронін (Т3) та реверсивний трийодтиронін. Якщо Т4 є гормоном, який виробляє виключно ЩЗ, то кількість біологічно активнішого гормону Т3 виробляється у ЩЗ лише в межах 20%, решта 80% – в екстратиреоїдних тканинах. Активний Т3 утворюється шляхом видалення атома йоду в зовнішньому кільці Т4, а реверсивний Т3 – через видалення атома йоду у внутрішньому кільці Т4. Це дейодування опосередковується ферментами дейодинази. Так, Т4 перетворюється на Т3 периферично під дією дейодинази типу 1 у тканинах з інтенсивним кровотоком, таких як печінка та нирки. У мозку Т4 перетворюється на активний Т3 за допомогою дейодинази типу 2, що виробляється гліальними клітинами [7]. Третій йодтиронін – реверсивний Т3 (3,3’,5’-трийодтиронін) є біологічно неактивним метаболітом Т4 та утворюється за допомогою дейодинази типу 3. Таким чином, дейодинази (1–3 типів) є основними фізіологічними активаторами гормонів ЩЗ. Це також опосередковує інактивацію Т3 у Т2. Теоретично інактивація Т4 з утворенням реверсивного Т3 або Т2 відіграє гомеостатичну роль, захищаючи тканини від надлишку гормонів ЩЗ [7–9].

Здебільшого стандартом лікування гіпотиреозу є відновлення рівня тиреоїдних гормонів з метою нормалізації їх вмісту у тканинах. Левотироксин (L-тироксин) ефективний для більшості пацієнтів з гіпотиреозом, однак нерідко симптоми залишаються, незважаючи на нормалізацію рівня тиреотропіну в сироватці крові [10]. Наразі Американська, Британська та Європейська тиреоїдні асоціації, а також Товариство ендокринології, погоджуються, що терапія L-тироксином може залишити значну кількість пацієнтів (10–20%) із залишковими симптомами гіпотиреозу [11]. Вони також погоджуються, що рівень Т3 у сироватці крові може не відновлюватися у всіх

disease, activated CD4+ T cells stimulate B cells to secrete thyroid-stimulating immunoglobulins against the thyroid-stimulating hormone receptor, leading to excessive hormone production by the thyroid and hyperthyroidism. In Hashimoto’s thyroiditis, self-reactive CD4+ T lymphocytes recruit B cells and CD8+ T cells into the thyroid. Disease progression leads to thyroid cell death and hypothyroidism. Both autoantibodies and thyroid-specific cytotoxic T lymphocytes are considered responsible for the autoimmune depletion of thyrocytes [4, 5].

Hashimoto’s thyroiditis is the most common AITD and a leading cause of hypothyroidism in regions with adequate iodine levels. Approximately 20–30% of patients suffer from Hashimoto’s thyroiditis, which is believed to be caused by a combination of genetic susceptibility and environmental factors leading to a loss of immunological tolerance and subsequent autoimmune aggression on thyroid tissue [6].

Thyroid hormones, namely free triiodothyronine (T3) and free thyroxine (T4), play a critical role in human homeostasis, as they are essential for growth, neuronal development, reproduction, and energy regulation, starting from intrauterine life. Thyroid hormone receptors are ubiquitous [1].

The primary secretory products of the thyroid are, as is well known, the inactive thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), and reverse triiodothyronine. While T4 is a hormone exclusively produced by the thyroid, only about 20% of the biologically active T3 is produced in the thyroid, with the remaining 80% produced in extrathyroidal tissues. Active T3 is formed by the removal of an iodine atom from the outer ring of T4, while reverse T3 is formed by the removal of an iodine atom from the inner ring of T4. This deiodination is mediated by deiodinase enzymes. Thus, T4 is converted to T3 peripherally by type 1 deiodinase in tissues with high blood flow, such as the liver and kidneys. In the brain, T4 is converted to active T3 through type 2 deiodinase, which is produced by glial cells [7]. The third iodothyronine, reverse T3 (3,3’,5’-triiodothyronine), is a biologically inactive metabolite of T4 and is formed through type 3 deiodinase. Therefore, deiodinases (types 1–3) are the main physiological activators of thyroid hormones. This also mediates the inactivation of T3 to T2. Theoretically, the inactivation of T4 to form reverse T3 or T2 plays a homeostatic role in protecting tissues from excess thyroid hormones [7–9].

Generally, the standard treatment for hypothyroidism involves restoring thyroid hormone levels to normalize their content in tissues. Levothyroxine (L-thyroxine) is effective for most patients with hypothyroidism; however, symptoms often persist despite normalizing serum thyroid-stimulating hormone levels [10]. Currently, the American, British, and European Thyroid Associations, as well as the Endocrine Society, agree that L-thyroxine therapy may leave a significant number of patients (10–20%) with residual hypothyroid symptoms [11]. They also agree that serum T3 levels may not normalize in all patients, even when thyroid-stimulating hormone and free T4 levels are normalized [11, 12]. Given this, the development of new treatment approaches for thyroid diseases is highly relevant.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

пацієнтів, навіть якщо рівні тиреотропного гормону і вільного Т4 у сироватці нормалізуються [11, 12]. З огляду на це, є актуальною розробка нових підходів до лікування хворих на ЩЗ.

Нашу увагу привернуло вивчення ефективності застосування біотехнологічних препаратів, які не містять клітин, підданих дії низьких температур при їх отриманні (кріоекстракти) або при тривалому зберіганні. Об'єктом дослідження було обрано безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби вітчизняного виробництва – кріоекстракт плаценти (КЕП) [13], кріоекстракт селезінки (КЕС) та кондиціоноване середовище від мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК). У попередніх дослідженнях показана ефективність застосування безклітинних препаратів при низці АІЗ – аутоімунному енцефаломієліті, аутоімунному міокардиті, аутоімунному артриті, аутоімунному гепатиті та мембранозній нефропатії та ін. [14–18].

Мета роботи – охарактеризувати вплив кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на синтез тиреоїдних гормонів при експериментальному аутоімунному тиреоїдиті.

Our attention was drawn to studying the effectiveness of biotechnological products that do not contain cells exposed to low temperatures during their production (cryosupernatants) or during long-term storage. The object of study was selected cell-free cryopreserved biological agents produced domestically – cryosupernatant of placenta (CEP) [13], cryosupernatant of spleen (CES), and conditioned medium from mesenchymal stem cells (MSC-CM). Previous studies have demonstrated the effectiveness of cell-free preparations in a range of AITDs, including autoimmune encephalomyelitis, autoimmune myocarditis, autoimmune arthritis, autoimmune hepatitis, and membranous nephropathy et al. [14–18].

Objective – to characterize the effect of cryosupernatants of placenta and spleen, as well as conditioned medium from mesenchymal stem cells, on thyroid hormone synthesis in experimental autoimmune thyroiditis.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

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 [19].

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, і стандартизували за вмістом загального білка (1–1,5 мг/мл) визначеним біуретовим методом [20, 21].

Отриману тиреоїдну антигенну суміш вводили щурам підшкірно в основу хвоста у дозі 1,0 мл/кг маси тіла двічі з інтервалом у 7 днів [20, 21].

Розвиток АІТ верифікували за рівнем антитіл до тиреоглобуліну на 14-й день експерименту. У якості референс-препарату використано синтетичну форму Т4 – L-тироксин, який вводили внутрішньошлунково (в/шл) в дозі 0,01 мг/кг щоденно з 17-го по 26-й день експерименту (усього 10 введень) [20–22]. У периферичних тканинах L-тироксин перетворюється у Т3 та забезпечує адекватне відновлення функції ЩЗ [22].

Дослідження ефективності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів при АІТ проведені на 42 шурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n = 7), яким на 14-й, 17-й, 20-й, 23-й та 26-й 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-й, 17-й, 20-й, 23-й та 26-й 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-й по 26-й дні експерименту в/шл

MATERIALS AND METHODS

AIT was modeled by administering to rats a thyroid antigen mixture consisting of PAF (Thermo Fisher Scientific, USA) and an antigen solution derived from an allogeneic thyroid gland homogenate in a 1:1 ratio [19].

The thyroid gland was homogenized in a 0.9% NaCl solution at a ratio of 1 ml/100 mg, filtered through a nylon filter, and centrifuged for 5 minutes at 1000 rpm. The supernatant containing the thyroid antigen was collected and standardized for total protein content (1–1.5 mg/ml) using the Biuret method [20, 21].

The resulting thyroid antigen mixture was injected subcutaneously into the base of the tail of rats at a dose of 1.0 ml/kg body weight twice, with a 7-day interval [20, 21].

The development of AIT was verified by measuring anti-thyroglobulin antibody levels on the 14th day of the experiment. As a reference, synthetic T4 – L-thyroxine was used, administered intragastrically (i.g.) at a dose of 0.01 mg/kg daily from the 17th to the 26th day of the experiment (a total of 10 administrations) [20–22]. In peripheral tissues, L-thyroxine is converted to T3 and ensures adequate restoration of thyroid function [22].

The efficacy of cell-free cryopreserved biological agents in AIT was studied on 42 male rats weighing 200–220 g, randomized into 6 groups:

I (negative control) – intact rats (n = 7) who were administered 0.9% NaCl solution at a dose of 1.0 ml/kg body weight intramuscularly on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment;

II – rats with modeled AIT (n = 7) with no treatment (control group), who were administered 0.9% NaCl solution at a dose of 1.0 ml/kg intramuscularly on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment;

III – rats with modeled AIT (n = 7), who received L-thyroxine (reference agent) intragastrically at a dose

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

вводили референс-препарат L-тироксин у дозі 0,01 мг/кг (усього 14 введень) [20];

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

V – щури зі змодельованим АІТ (n = 7), яким на 14-й, 17-й, 20-й, 23-й та 26-й дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [24];

VI – щури зі змодельованим АІТ (n = 7), яким на 14-й, 17-й, 20-й, 23-й та 26-й дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [25, 26].

На 14-й день експерименту відбирали зразки венозної крові, а на 28-му добу експерименту тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним CHCI3 «рауш-наркозом» та відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові.

Вміст Т3 (загальний та вільний) та Т4 (загальний та вільний) визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (Human GmbH, Німеччина) та виражали у нмоль /л (загальний), пкмоль/л (вільний).

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel» 2010. Оцінку характеру розподілу величин у 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 Стьюдента. 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 ± m» (M ± 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). Для графічного подання даних обрано діаграми розмаху (box-and-whiskers diagram – «шухлядові» діаграми з «вусами») [27].

of 0.01 mg/kg daily from the 17th to the 26th day of the experiment (a total of 14 administrations) [20];

IV – rats with modeled AIT (n = 7), who received cryosupernatant of placenta (CEP) intramuscularly at a dose of 2.5 ml/kg on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment [23];

V – rats with modeled AIT (n = 7), who received cryosupernatant of spleen (CES) intramuscularly at a dose of 5.0 ml/kg on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment [24];

VI – rats with modeled AIT (n = 7), who received conditioned medium from mesenchymal stem cells (MSC-CM) intramuscularly at a dose of 0.6 ml/kg on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment [25, 26].

On the 14th day of the experiment, venous blood samples were collected, and on the 28th day, the animals were euthanized via cervical dislocation under inhalation anesthesia with CHCI3 «Raush-narcosis» and mixed (venous and arterial) blood samples were taken.

The levels of T3 (total and free) and T4 (total and free) were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with standard kits for immunoassay (Human GmbH, Germany), and the results were expressed in nmol/l (total) and pmol/l (free).

Statistical processing of the obtained results was performed using the applied software for working with electronic spreadsheets «Microsoft Office Excel» 2010. The distribution of values in each group was evaluated using the Shapiro-Wilk test (for n < 50). Homogeneity of variances was assessed using Levene's test. To evaluate the significance of differences in the investigated parameters under different experimental conditions, statistical analysis was conducted using parametric or non-parametric tests. For normally distributed independent values, differences between groups were determined pairwise using the Student's t-test. The obtained values were compared with critical values at significance levels above 95.0% (p < 0.05), above 99.0% (p < 0.01), above 99.5% (p < 0.005), and above 99.9% (p < 0.001), and conclusions were drawn about the probability of error. Numerical data for normally distributed values are presented as «M ± m» (M ± SE), where M is the arithmetic mean, m (SE) is the standard error of the mean, or M (95% CI: 5% – 95%), where 95% CI represents the 95% confidence interval. For graphical representation of the data, box-and-whiskers diagrams were chosen [27].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведене дослідження показало, що на тлі розвитку АІТ у щурів на 28-й день експерименту спостерігалося статистично вірогідне (p < 0,001) зростання рівня загального Т3 на 72,0% у контрольній групі (щури з АІТ без лікування), порівняно з інтактними щурами (табл. 1). Рівень загального Т3 у контрольній групі становив 3,1 ± 0,15 (95% ДІ: 2,8–3,4) нмоль/л, що значно перевищує рівень Т3 в інтактних щурів (1,8 ± 0,11 (95% ДІ: 1,6–2,0) нмоль/л).

На тлі проведення терапії спостерігалась різна виразність впливу досліджуваних препаратів на рівень

RESULTS AND DISCUSSION

The study showed that by the 28th day of the experiment, during the development of AIT in rats, there was a statistically significant (p < 0.001) increase in total T3 levels by 72.0% in the control group (rats with AIT without treatment) compared to the intact rats (Table 1). The total T3 level in the control group was 3.1 ± 0.15 (95% CI: 2.8–3.4) nmol/l, which was significantly higher than the level in the intact rats (1.8 ± 0.11 (95% CI: 1.6–2.0) nmol/l).

During therapy, the effect of the studied agents on total T3 levels varied. In the group of rats receiving

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

загального Т3. Так, у групі щурів, які отримували L-тироксин, рівень загального Т3 становив 3,2 ± 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 Т3 знизився на 19,1% (p = 0,01) і становив 2,5 ± 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 спостерігалося зниження рівня загального Т3: на тлі введення КЕС рівень Т3 знизився на 13,5% (p = 0,06), до 2,7 ± 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±0,14 (95% ДІ: 1,7–2,2) нмоль/л.

L-thyroxine, the total T3 level was 3.2 ± 0.13 (95% CI: 3.0–3.5) nmol/l, which did not statistically differ from the control group (p = 0.5). However, after administering CEP, the total T3 level decreased by 19.1% (p = 0.01) to 2.5 ± 0.14 (95% CI: 2.2–2.8) nmol/l, which was statistically significantly lower compared to the control group. In rats receiving CES and MSC-CM, a decrease in total T3 levels was also observed: with CES administration, the T3 level decreased by 13.5% (p = 0.06) to 2.7 ± 0.14 (95% CI: 2.4–2.9) nmol/l, while with MSC-CM administration, this level decreased by 36.6% (p < 0.001) to 2.0 ± 0.14 (95% CI: 1.7–2.2) nmol/l.

Таблиця 1. Вплив кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС), кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) та левотироксину на рівень трийодтиріну (Т3) у сироватці крові щурів з аутоімунним тиреоїдитом (АІТ) на 28 день експерименту (M ± m (95% ДІ), n = 42)
Table 1. The effect of cryoextract of placenta (CEP), cryoextract of spleen (CES), conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM), and levothyroxine on the level of triiodothyronine (T3) in the serum of rats with autoimmune thyroiditis (AIT) on the 28th day of the experiment (M ± m (95% CI), n = 42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання The studied parameter, units of measurement	Умови експерименту / Conditions of the experiment					
	I (1) група Group I (1)	II (2) група Group II (2)	III (3) група Group III (3)	IV (4) група Group IV (4)	V (5) група Group V (5)	VI (6) група Group VI (6)
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АІТ без лікування) Control (AIT without treatment)	АІТ+ L-тироксин AIT + L-thyroxine	АІТ+ КЕП AIT + CEP	АІТ+ КЕС AIT+ КЕП AIT + CES	АІТ+ КС-МСК AIT+ КЕП AIT + MSC-CM
n	7	7	7	7	7	7
Загальний трийодтиронін, нмоль/л Total triiodothyronine, nmol/L	1,8±0,11 (95% ДІ/CI: 1,6–2,0)	3,1±0,15 (95% ДІ/CI: 2,8–3,4) p_1<0,001 [72,0%]	3,2±0,13 (95% ДІ/CI: 3,0–3,5) p_2=0,5 [4,7%]	2,5±0,14 (95% ДІ/CI: 2,2–2,8) p_2=0,01 [19,1%] p_3=0,002 [22,7%]	2,7±0,14 (95% ДІ/CI: 2,4–2,9) p_2=0,06 [13,5%] p_3=0,012 [19,2%]	2,0±0,14 (95% ДІ/CI: 1,7–2,2) p_2<0,001 [36,6%] p_3<0,001 [39,1%]
Вільний трийодтиронін, пкмоль/л Free triiodothyronine, pmol/L	3,3±0,16 (95% ДІ/CI: 3,0–3,6)	7,7±0,22 (95% ДІ/CI: 7,3–8,2) p_1<0,001 [133,6%]	5,4±0,14 (95% ДІ/CI: 5,1–5,7) p_2<0,001 [30,3%]	4,0±0,19 (95% ДІ/CI: 3,6–4,4) p_2<0,001 [48,5%] p_3<0,001 [26,2%]	5,0±0,15 (95% ДІ/CI: 4,8–5,3) p_2<0,001 [34,9%] p_3=0,1 [6,6%]	4,7±0,22 (95% ДІ/CI: 4,3–5,2) p_2<0,001 [38,7%] p_3=0,028 [12,2%]

Примітки:
p1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.

Notes:
p1 – the level of statistical significance of the differences in indicators;
[%] – the percentage value of the differences in the indicators;
The indices 1, 2, 3 indicate the group number with which the comparison of indicators was made.

Згідно з отриманими результатами, найбільш виразне зниження рівня загального Т3 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 Т3, то він також зазнав суттєвих змін в аналогічних умовах експерименту. У щурів контрольної групи рівень вільного Т3 досяг 7,7 ± 0,22 (95% ДІ: 7,3–8,2) пкмоль/л, що на 133,6% перевищувало рівень вільного Т3 в інтактних щурів (3,3 ± 0,16 (95% ДІ: 3,0–3,6) пкмоль/л). При цьому введення L-тироксину щурам з АІТ призвело до зниження рівня вільного Т3 на 30,3% (p < 0,001), до 5,4 ± 0,14 (95% ДІ: 5,1–5,7) пкмоль/л. У групах тварин, яким вводили КЕП та КЕС, рівень вільного Т3 також знизився, хоча цей ефект був менш виразним, ніж у групі тварин з АІТ, яким вводили L-тироксин (табл. 1).

Зокрема, на тлі введення КЕП рівень вільного Т3 знизився на 48,5% (p < 0,001) та становив 4,0 ± 0,19

According to the obtained results, the most significant decrease in total T3 levels occurred in the group of rats receiving MSC-CM, which suggests a potentially powerful corrective effect of this agent on the hormonal background in rats with AIT.

Regarding free T3 levels, significant changes were also observed under similar experimental conditions. In the control group, the free T3 level reached 7.7 ± 0.22 (95% CI: 7.3–8.2) pmol/l, which was 133.6% higher than the level of free T3 in intact rats (3.3 ± 0.16 (95% CI: 3.0–3.6) pmol/l). Administration of L-thyroxine to rats with AIT led to a 30.3% reduction in free T3 levels (p < 0.001) to 5.4 ± 0.14 (95% CI: 5.1–5.7) pmol/l. In the groups of rats receiving CEP and CES, free T3 levels also decreased, although this effect was less pronounced than in the group receiving L-thyroxine (see Table 1).

In particular, after administering CEP, the free T3 level decreased by 48.5% (p < 0.001) to 4.0 ± 0.19 (95% CI: 3.6–4.4) pmol/l, while after CES administration,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

(95% ДІ: 3,6–4,4) пкмоль/л, а на тлі введення КЕС рівень вільного Т3 становив 5,0 ± 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 ± 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. 1).

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 виявилося 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-й 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 (рис. 1).

the free T3 level was 5.0 ± 0.15 (95% CI: 4.8–5.3) pmol/l, which was 34.9% lower ($p < 0.001$) compared to the control group (AIT without treatment). Administration of MSC-CM also led to a decrease in free T3 levels to 4.7 ± 0.22 (95% CI: 4.3–5.2) pmol/l, which was statistically significantly ($p < 0.001$) 38.7% lower than the levels in the control group (see Table 1).

Thus, the study results confirm that the administration of L-thyroxine, as well as CEP, CES, and MSC-CM, has a significant impact on the levels of T3 in the serum of rats with AIT, leading to a noticeable decrease in both total and free T3 levels. The most pronounced decrease in T3 levels was observed in the MSC-CM group, suggesting its potential therapeutic effectiveness in animals with AIT.

Additionally, it was established that by the 28th day of the experiment, in the control group of rats with AIT, there was a statistically significant ($p = 0.03$) reduction of 27.4% in the ratio of total to free T3 compared to intact rats. This indicates a dysfunction of the thyroid gland under AIT conditions, manifested in the r educed availability of free T3 (Fig. 1).

I

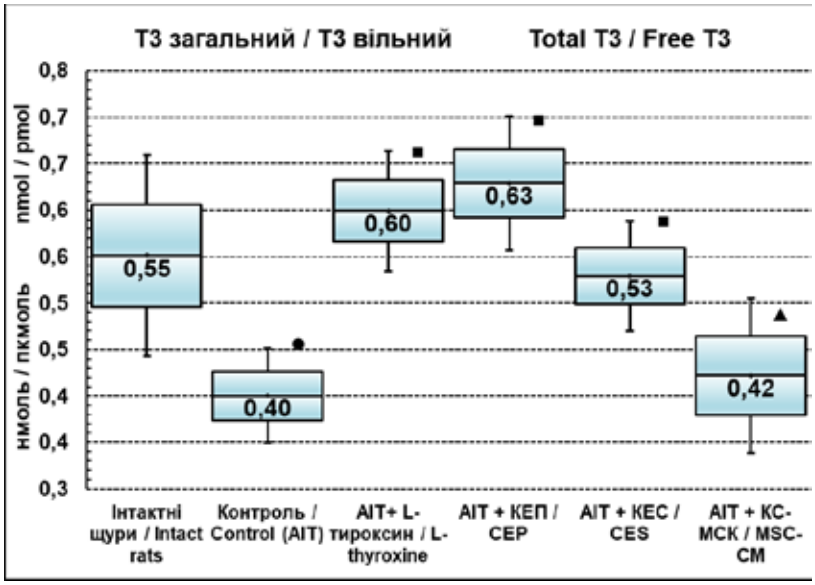

Рис. 1. Кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС), кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) та левотироксину на співвідношення загального та вільного трийодтироніну у щурів з АІТ
Fig. 1. Effect of cryoextract of placenta (CEP), cryoextract of spleen (CES), conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM), and levothyroxine on the ratio of total to free triiodothyronine in rats with AIT

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.
● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІТ (контрольна група);
▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІТ, яким вводили L-тироксин.

Notes:
1. The distribution of values within each group follows a normal distribution.
2. The boxes include the values for the standard error of the mean, and the vertical lines outside the boxes represent the 95% confidence interval.
3. The horizontal line inside the box represents the mean value.
● – $p < 0.05$ compared to intact rats.
■ – $p < 0.05$ compared to rats with AIT (control group).
▲ – $p < 0.05$ compared to rats with AIT treated with L-thyroxine.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

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 спостерігалося 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.

Щурі, 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) поступались за здатністю відновлювати співвідношення загального до вільного Т3 референс-препарату L-тироксину (див. рис. 1).

Дослідження впливу КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на рівень Т4 у сироватці крові щурів з АІТ на 28-й день експерименту показало статистично значущі зміни в рівні загального та вільного Т4. Так, на тлі розвитку АІТ у щурів спостерігалося 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 ± 2,2 (95% ДІ: 93,6–102,4) нмоль/л (табл. 2).

In the rats treated with L-thyroxine, the ratio of total to free T3 increased by 49.7% (p < 0.001), indicating the normalization of thyroid hormone levels with the use of the synthetic thyroid hormone analogue.

In the CEP-treated group, the ratio of total to free T3 increased by 57.2% (p = 0.03) compared to the control group, while CES administration resulted in a 32.2% (p = 0.007) increase in this ratio, though the effect was less pronounced than with L-thyroxine and CEP. Rats treated with MSC-CM showed only a modest increase in this ratio of 5.5% (p = 0.7), which was the smallest result among the tested biological products, and they were 32.9% statistically significantly (p = 0.007) less effective in restoring the total to free T3 ratio compared to the L-thyroxine group.

These results highlight the importance of selecting the appropriate treatment for correcting thyroid dysfunction in AIT, particularly the potential use of CEP and CES in the therapy of this condition.

The study on the effects of CEP, CES, MSC-CM, and L-thyroxine on the T4 levels in the serum of rats with AIT on the 28th day of the experiment revealed statistically significant changes in both total and free T4 levels. In particular, the development of AIT in rats was associated with a 51.7% increase (p < 0.001) in total T4 levels, indicating the development of thyroid gland dysfunction. In rats receiving L-thyroxine, the total T4 level was 98.0 ± 2.2 (95% CI: 93.6–102.4) nmol/L (Table 2).

Таблиця 2. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та L-тироксину на співвідношення загального до вільного тироксину (Т4) у сироватці крові щурів з аутоімунним тиреоїдитом (АІТ) на 28 день експерименту (M ± m (95% ДІ), n = 42)
Table 2. The effect of cryoextract of placenta (CEP), cryoextract of spleen (CES), conditioned medium of mesenchymal stem cells (CMS-CM), and levothyroxine on the ratio of total to free thyroxine (T4) in the serum of rats with autoimmune thyroiditis (AIT) on the 28th day of the experiment (M ± m (95% CI), n = 42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання The studied parameter, units of measurement	Умови експерименту / Conditions of the experiment					
	I (1) група Group I (1)	II (2) група Group II (2)	III (3) група Group III (3)	IV (4) група Group IV (4)	V (5) група Group V (5)	VI (6) група Group VI (6)
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АІТ без лікування) Control (AIT without treatment)	АІТ+ L-тироксин AIT + L-thyroxine	АІТ+ КЕП AIT + CEP	АІТ+ КЕС АІТ+ КЕП AIT + CES	АІТ+ КС-МСК АІТ+ КЕП AIT + MSC-CM
n	7	7	7	7	7	7
Загальний тироксин, нмоль/л Total thyroxine, nmol/L	66,3±1,6 (95% ДІ/CI: 63,2–69,4)	100,6±2,4 (95% ДІ/CI: 95,9–105,3) p_1<0,001 [51,7%]	98,0±2,2 (95% ДІ/CI: 93,6–102,4) p_2=0,4 [2,6%]	78,4±2,0 (95% ДІ/CI: 74,5–82,3) p_2<0,001 [22,0%] p_3<0,001 [20,0%]	99,6±2,3 (95% ДІ/CI: 95,0–104,1) p_2=0,7 [1,0%] p_3=0,6 [1,5%]	81,7±2,3 (95% ДІ/CI: 77,2–86,2) p_2<0,001 [18,8%] p_3<0,001 [16,6%]
Вільний тироксин, пкмоль/л Free thyroxine, pmol/L	8,7±0,6 (95% ДІ/CI: 7,5–9,9)	24,6±1,2 (95% ДІ/CI: 22,2–26,9) p_1<0,001 [182,0%]	17,0±1,1 (95% ДІ/CI: 14,9–19,1) p_2<0,001 [30,8%]	16,7±1,3 (95% ДІ/CI: 14,2–19,3) p_2<0,001 [32,0%] p_3<0,9 [1,7%]	19,9±0,5 (95% ДІ/CI: 18,9–20,9) p_2=0,003 [19,2%] p_3=0,03 [16,8%]	12,4±0,8 (95% ДІ/CI: 11,0–13,9) p_2<0,001 [49,4%] p_3=0,004 [26,9%]

Примітки:
p1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.

Notes:
p1 – the level of statistical significance of the differences in indicators;
[%] – the percentage value of the differences in the indicators;
The indices 1, 2, 3 indicate the group number with which the comparison of indicators was made.

У групах, що отримували КЕП, КЕС та КС-МСК, відзначався значно нижчий рівень загального Т4, ніж

In the groups treated with CEP, CES, and MSC-CM, the total T4 levels were significantly lower than in the

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

у групі щурів з АІТ без лікування, однак був вищим, ніж у інтактних тварин. Так, на тлі введення КЕП рівень Т4 становив 78,4 ± 2,0 (95% ДІ: 74,5–82,3) нмоль/л, що вказує на помірне коригування рівня Т4, однак залишалося деяке порушення функції ЩЗ.

Щодо вільного Т4, то встановлено, що на тлі розвитку АІТ спостерігалося 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 ± 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±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 ± 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. На тлі введення КС-МСК рівень вільного Т4 у щурів з АІТ складав 12,4 ± 0,8 (95% ДІ: 11,0–13,9) пкмоль/л, що вказує на найвиразніше зниження рівня Т4, порівняно з іншими підходами до лікування (табл. 2).

Таким чином, результати дослідження підтверджують, що використання біологічних препаратів, таких як КЕП, КЕС та КС-МСК, приводить до коригування р івня 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-й 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 ± 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 (рис. 2).

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 ± 0,4 (95% ДІ: 5,1–6,8) нмоль/пкмоль, що наблизилося до рівня інтактних щурів (7,9 ± 0,7 (95% ДІ: 6,4–9,4) нмоль/пкмоль). Ці результати вказують на те, що L-тироксин не тільки

untreated AIT group but still higher than in the intact rats. Specifically, following CEP administration, the T4 level was 78.4 ± 2.0 (95% CI: 74.5–82.3) nmol/L, indicating moderate correction of T4 levels, though thyroid function remained partially impaired.

Regarding free T4, it was found that in the course of AIT development, there was a significant increase of 182.0% (p < 0.001) compared to the levels in intact rats. The free T4 in the serum of untreated AIT rats was 24.6 ± 1.2 (95% CI: 22.2–26.9) pmol/L, indicating thyroid hormone metabolism disruption. The administration of L-thyroxine resulted in a statistically significant decrease in free T4 levels by 30.8% (p < 0.001) compared to untreated AIT rats, indicating the potential for normalizing this hormone level.

In rats receiving CEP, the free T4 level was 16.7 ± 1.3 (95% CI: 14.2–19.3) pmol/L, indicating partial normalization of this parameter, although some deviation from the norm persisted. In the CES group, the free T4 level was 19.9 ± 0.5 (95% CI: 18.9–20.9) pmol/L, showing a less pronounced trend of reduction compared to the L-thyroxine-treated group. In rats receiving MSC-CM, the free T4 level was 12.4 ± 0.8 (95% CI: 11.0–13.9) pmol/L, demonstrating the most pronounced decrease in free T4 levels compared to other treatments (Table 2).

Thus, the results of the study confirm that the use of biological agents such as CEP, CES, and MSC-CM leads to the correction of T4 levels. Notably, the most significant decrease in total T4 levels in rats with AIT was observed with CEP administration, and the most pronounced decrease in free T4 levels was seen with MSC-CM administration, with reductions of 22.0% (p < 0.001) and 49.4% (p < 0.001), respectively. These values were 20.0% (p < 0.001) and 26.9% (p = 0.004) lower than the elevated similar values observed in the L-thyroxine group.

The assessment of the effects of CEP, CES, MSC-CM, and L-thyroxine on the ratio of total to free T4 in the serum of rats with AIT on the 28th day of the experiment showed significant changes in the studied parameters. The ratio of total to free T4 is an important indicator reflecting the efficiency of T4 conversion in the body and its availability to tissues.

In untreated AIT rats, the ratio of total to free T4 was 4.2 ± 0.3 (95% CI: 3.6–4.7) nmol/pmol, which was 47.3% lower compared to intact rats (p < 0.001). This indicates a significant disruption in T4 metabolism in the context of AIT, which may be related to a disruption in the relationship between total and free T4 (Fig. 2).

Administration of L-thyroxine in rats with AIT resulted in a statistically significant increase in the ratio of total to free T4 by 42.1% (p = 0.005), indicating the effectiveness of this treatment in restoring thyroid function and normalizing hormonal levels. The ratio of total to free T4 in the L-thyroxine group was 5.9 ± 0.4 (95% CI: 5.1–6.8) nmol/pmol, which approached the levels in intact rats (7.9 ± 0.7 (95% CI: 6.4–9.4) nmol/pmol). T hese results suggest that L-thyroxine not only normalizes T4 levels in the blood but also restores its optimal ratio.

Regarding the groups of animals that received the investigated cryoextracts, some changes were observed, although less pronounced compared to the group that

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

нормалізує рівень Т4 в 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.

received L-thyroxine. Administration of CEP resulted in a 15.8% increase in the ratio of total to free T4 ($p < 0.001$), indicating a partial correction of thyroid hormone metabolism disturbances. The total to free T4 ratio in the CEP group was 4.8 ± 0.3 (95% CI: 4.2–5.4) nmol/pmol, suggesting moderate recovery of thyroid function, though still lower than the values in the intact rat group.

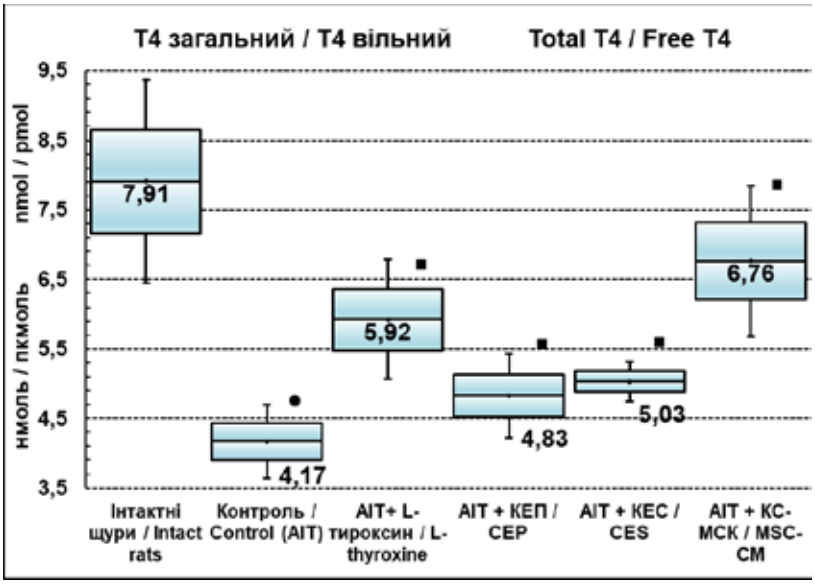

Рис. 2. Вплив кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС), кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) та левотироксину на співвідношення загального та вільного тироксину у щурів з АІТ

Fig. 2. Effect of cryoextract of placenta (CEP), cryoextract of spleen (CES), conditioned medium of mesenchymal stem cells (CMSC), and levothyroxine on the ratio of total to free thyroxine in rats with AIT

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.

● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІТ (контрольна група).

Notes:

1. The distribution of values within each group of the sample population is normal.
2. The boxes include the values of the standard error of the mean, and the vertical lines outside the boxes represent the 95% confidence interval.
3. The horizontal line inside the box represents the arithmetic mean.

● – $p < 0.05$ compared to the values of intact rats.
■ – $p < 0.05$ compared to the values of rats with AIT (control group).

Застосування КЕП привело 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 ± 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 ± 0,1 (95% ДІ: 4,7–5,3) нмоль/пкмоль, що на 20,7% більше, порівняно з групою АІТ без лікування, але залишалося 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 ± 0,6 (95% ДІ: 5,7–7,8) нмоль/пкмоль, що на 62,3% більше, порівняно з показниками щурів з АІТ без лікування ($p = 0,001$).

In the group of rats that received CES, the total to free T4 ratio was 5.0 ± 0.1 (95% CI: 4.7–5.3) nmol/pmol, which was 20.7% higher compared to the AIT untreated group but still lower than the values in the intact animals. The difference was statistically significant ($p = 0.016$), although the treatment effect was less pronounced compared to the L-thyroxine group.

Regarding the administration of MSC-CM, the total to free T4 ratio was 6.8 ± 0.6 (95% CI: 5.7–7.8) nmol/pmol, which was 62.3% higher compared to the values in the untreated AIT rats ($p = 0.001$).

Overall, these results suggest that the development of AIT leads to a disturbance in the ratio of total to free T4, an important indicator of thyroid dysfunction. The use of MSC-CM in rats with AIT proved to be the most effective in restoring the normal ratio of total to free T4.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

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.

ВИСНОВКИ

У проведеному дослідженні на тлі розвитку АІТ у щурів спостерігалося 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 ($p < 0,001$).

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.

Рівень загального Т4 у щурів з АІТ збільшився на 51,7% ($p < 0,001$), що вказує на порушення функції ЩЗ. Підвищений рівень вільного Т4 у 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% ($p = 0,004$) було нижче за підвищені аналогічні показники у групі щурів, яким вводили L-тироксин.

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 привело 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 ± 0,6 (95% ДІ: 5,7–7,8) нмоль/пкмоль, що на 62,3% було більше, порівняно з показниками щурів з АІТ без лікування ($p = 0,001$).

CONCLUSIONS

The study revealed that in rats with AIT, there was a statistically significant increase in the total T3 level by 72.0% in the control group compared to intact rats ($p < 0.001$). Treatment with L-thyroxine did not cause significant changes in T3 levels ($p = 0.5$), whereas the administration of CEP, CES, and MSC-CM led to a reduction in total T3 levels: by 19.1%, 13.5%, and 36.6%, respectively, with the most pronounced effect observed in the MSC-CM group ($p < 0.001$).

In rats with AIT, the total to free T3 ratio decreased by 27.4% ($p < 0.001$), indicating thyroid dysfunction. Treatment with L-thyroxine and CEP led to a significant increase in this ratio, whereas CES and MSC-CM produced less pronounced results.

The total T4 level in rats with AIT increased by 51.7% ($p < 0.001$), indicating thyroid dysfunction. The elevated free T4 level in the AIT groups (by 182.0%, $p < 0.001$) was corrected by L-thyroxine by 30.8% ($p < 0.001$). The most pronounced decrease in total T4 levels in rats with AIT was observed with CEP administration, while the most significant reduction in free T4 was observed with MSC-CM – by 22.0% ($p < 0.001$) and 49.4% ($p < 0.001$), respectively. These reductions were 20.0% ($p < 0.001$) and 26.9% ($p = 0.004$) lower than the elevated corresponding levels in the L-thyroxine-treated group.

The total to free T4 ratio in rats with AIT without treatment decreased by 47.3% ($p < 0.001$), confirming metabolic disturbances. L-thyroxine treatment led to a 42.1% increase in this ratio ($p = 0.005$), bringing it closer to the levels in intact rats. Administration of CEP and CES also improved the ratio, although the effects were less pronounced. The ratio of total to free T4 in rats with AIT on MSC-CM treatment was 6.8 ± 0.6 (95% CI: 5.7–7.8) nmol/pmol, which was 62.3% higher compared to untreated AIT rats ($p = 0.001$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Patrizio A., Ferrari S.M., Elia G., Ragusa F., Balestri E., Botrini C., Rugani L., Mazzi V., Antonelli A., Fallahi P., Benvenga S. Hypothyroidism and metabolic cardiovascular disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024. Т. 15. 1408684 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1408684
2. Tywanek E., Michalak A., Świrska J., Zwolak A. Autoimmunity, New Potential Biomarkers and the Thyroid Gland-The Perspective of Hashimoto's Thyroiditis and Its Treatment. *International journal of molecular sciences*. 2024. Т. 25, № 9. 4703 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms25094703
3. Jeong C., Baek H., Bae J., Hwang N., Ha J., Cho Y.S., Lim D.J. Gut microbiome in the Graves' disease: Comparison before and after anti-thyroid drug treatment. *PLoS One*. 2024. Т. 19, № 5. e0300678 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300678

REFERENCES

1. Patrizio A, Ferrari SM, Elia G, Ragusa F, Balestri E, Botrini C, Rugani L, Mazzi V, Antonelli A, Fallahi P, Benvenga S. Hypothyroidism and metabolic cardiovascular disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024;15:1408684. DOI: https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1408684
2. Tywanek E, Michalak A, Świrska J, Zwolak A. Autoimmunity, New Potential Biomarkers and the Thyroid Gland-The Perspective of Hashimoto's Thyroiditis and Its Treatment. *International journal of molecular sciences*. 2024;25(9):4703. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms25094703
3. Jeong C, Baek H, Bae J, Hwang N, Ha J, Cho YS, Lim DJ. Gut microbiome in the Graves' disease: Comparison before and after anti-thyroid drug treatment. *PLoS One*. 2024;19(5):e0300678. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300678

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

4. Гладких Ф.В. Сучасний концепт участі тиреоїдних антигенів та цитокінів у імунопатогенезі аутоімунного тиреоїдиту. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія.* 2023. Т. 4 (84). С. 22–31. DOI: https://doi.org/10.30978/CEES-2023-4-22
5. Stassi G., De Maria R. Autoimmune thyroid disease: new models of cell death in autoimmunity. *Nature reviews. Immunology.* 2002. Т. 2, № 3. P. 195–204. DOI: https://doi.org/10.1038/nri750
6. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimoto's thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. Best practice & research. *Clinical endocrinology & metabolism.* 2019. Т. 33, № 6. 101367 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101367
7. Armstrong M., Asuka E., Fingeret A. Physiology, Thyroid Function. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.
8. Підченко Н.С. Застосування L-тироксину в лікуванні патологій щитовидної залози та проблеми контролю терапії (огляд літератури). *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2020. Т. 28, № 4. С. 387–402. DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2020.387-402
9. Gereben B., Zavacki A.M., Ribich S., Kim B.W., Huang S.A., Simonides W.S., Zeöld A., Bianco A.C. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocrine reviews*. 2008. Т. 29, № 7. P. 898–938. DOI: https://doi.org/10.1210/er.2008-0019
10. Bianco A.C. Emerging Therapies in Hypothyroidism. *Annual review of medicine.* 2024. Т. 75. P. 307–319. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-med-060622-101007
11. Jonklaas J., Bianco A.C., Cappola A.R., Celi F.S., Fliers E., Heuer H. Evidence-Based Use of Levothyroxine/Liothyronine Combinations in Treating Hypothyroidism: A Consensus Document. *Thyroid*. 2021. Т. 31, № 2. P. 156–182. DOI: https://doi.org/10.1089/thy.2020.0720
12. Ahluwalia R., Baldeweg S.E., Boelaert K., Chatterjee K., Dayan C., Okosieme O. Use of liothyronine (T3) in hypothyroidism: Joint British Thyroid Association/Society for Endocrinology consensus statement. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2023. Т. 99, № 2. P. 206–216. DOI: https://doi.org/10.1111/cen.14935
13. Гладких Ф.В., Чиж М.О. Нестероїдні протизапальні засоби: сучасне уявлення про механізми ушкодження травного тракту, недоліки препаратів патогенетичного лікування та перспективи біологічної терапії НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії. *Гастроентерологія*. 2020. Т. 54, № 4. С. 253–266. DOI: https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.4.2020.216714
14. Гладких Ф.В. Оцінка орієнтовної та дослідницької активності у щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом при введенні безклітинних кріоконсервованих біологічних агентів. *Психіатрія, неврологія та медична психологія.* 2024. Т. 11, № 2(24). С. 124–137. DOI: https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02
15. Гладких Ф.В., Кошурба І.В., Чиж М.О. Характеристика антиульцерогенної активності кріоекстракту плаценти при гострому та хронічному ураженнях шлунка. *Сучасні медичні технології*. 2023. Т. 56, № 1. С. 62–68. DOI: https://doi.org/10.34287/MMT.1(56).2023.10
16. Гладких Ф.В., Лядова Т.І. Анальгетичний потенціал кріоекстрактів біологічних тканин і кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні експериментального аутоімунного артриту. *Одеський медичний журнал*. 2024. Т. 186, № 1. С. 35–41. DOI: https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-1-6
17. Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Соловйов С.О. Особливості клітинного циклу гепатоцитів при експериментальному аутоімунному гепатиті під впливом кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиційного середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Клінічна та профілактична медицина*. 2024. Т. 7, № 37. С. 24–37. DOI: https://doi.org/10.31612/2616-4868.7.2024.03
18. Hladkykh F.V., Chyzh M.O., Manchenko A.O., Belochkina I.V., Mikhailova I.P. Effect of cryopreserved placenta extract on some biochemical indices of therapeutic efficiency and toxicity of diclofenac sodium in adjuvant-induced experimental arthritis. *Pharmacy & Pharmacology.* 2021. Vol. 9, № 4. P. 278–293. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-293
19. Гладких Ф.В. Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 414–439. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10
20. Курилко ЮС. Експериментальне визначення впливу біопрепарату кордової крові на функціональну активність щитоподібної залози та імунну систему у щурів за умов моделювання автоімунного тиреоїдиту [дисертація]. Харків, 2024. 189 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0823U101476/

4. Hladkykh F.V. Modern concept of the participation of thyroid antigens and cytokines in the immunopathogenesis of autoimmune thyroiditis. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*. 2023;4(84):22–31. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.30978/CEES-2023-4-22
5. 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
6. Ragusa F, Fallahi P, Elia G, Gonnella D, Paparo SR, Giusti C, Churilov LP, Ferrari SM, Antonelli A. Hashimoto's thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. Best practice & research. *Clinical endocrinology & metabolism.* 2019;33(6):101367. DOI: https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101367
7. Armstrong M, Asuka E, Fingeret A. Physiology, Thyroid Function. *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.
8. Pidchenko NS. The use of L-thyroxine in the treatment of thyroid pathologies and problems of therapy control (literature review). *Ukrainian Journal of Radiology and Oncology.* 2020;28(4):387–402. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2020.387-402
9. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeöld A, Bianco AC. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocrine reviews.* 2008;29(7):898–938. DOI: https://doi.org/10.1210/er.2008-0019
10. Bianco AC. Emerging Therapies in Hypothyroidism. *Annual review of medicine.* 2024;75:307–19. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-med-060622-101007
11. Jonklaas J, Bianco AC, Cappola AR, Celi FS, Fliers E, Heuer H. Evidence-based use of levothyroxine/liothyronine combinations in treating hypothyroidism: a consensus document. *Thyroid*. 2021;31(2):156–82. DOI: https://doi.org/10.1089/thy.2020.0720
12. Ahluwalia R, Baldeweg SE, Boelaert K, Chatterjee K, Dayan C, Okosieme O. Use of liothyronine (T3) in hypothyroidism: Joint British Thyroid Association/Society for Endocrinology consensus statement. *Clinical Endocrinology.* 2023;99(2):206–16. DOI: https://doi.org/10.1111/cen.14935
13. Hladkykh FV, Chyzh MO. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a modern understanding of the mechanisms of damage to the digestive tract, the shortcomings of pathogenetic drugs and prospects for biological therapy of NSAID-induced esophagogastroenterocolonopathy. *Gastroenterology* (Ukraine). 2020;54(4):253–266. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.4.2020.216714
14. Hladkykh FV. Evaluation of tentative and research activity in rats with experimental allergic encephalomyelitis against the administration of cell-free cryopreserved biological agents. *Psychiatry, Neurology and Medical Psychology.* 2024;11(2(24)):124–37. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02
15. Hladkykh FV, Koshurba MO, Chyzh MO. Characteristics of the antiulcerogenic activity of cryopreserved placenta extract in acute and chronic lesions of the stomach. *Modern Medical Technology*. 2023;56(1):62–68. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.34287/MMT.1(56).2023.10
16. Hladkykh FV, Liadova TI. Analgesic potential of cryoextracts of biological tissues and conditioned medium of mesenchymal stem cells in the treatment of experimental autoimmune arthritis. *Odessa Medical Journal.* 2024;186(1):35–41. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-1-6
17. Hladkykh FV, Liadova TI, Solovyiov SO. Features of the hepatocyte cell cycle in experimental autoimmune hepatitis under the influence of cryoextracts from placenta and spleen, as well as the conditioned medium of mesenchymal stem cells. *Clinical and Preventive Medicine.* 2024;7(3):24–37. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.31612/2616-4868.7.2024.03
18. Hladkykh FV, Chyzh MO, Manchenko AO, Belochkina IV, Mikhailova IP. Effect of cryopreserved placenta extract on some biochemical indices of therapeutic efficiency and toxicity of diclofenac sodium in adjuvant-induced experimental arthritis. *Pharmacy & Pharmacology.* 2021;9(4):278–293. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-29
19. Hladkykh FV. Freund's adjuvant is a classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3):414–39. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10
20. Kurylko YuS. Experimental determination of the impact of cord blood biopreparations on the functional activity of the thyroid gland and immune system in rats under experimental conditions of autoimmune thyroiditis modeling [dissertation]. Kharkiv, 2024:189. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0823U101476/

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

21. Witebsky E., Rose N.R., Terplan K., Paine J.R., Egan R.W. Chronic thyroiditis and autoimmunization. *Journal of the American Medical Association.* 1957. Т. 164, № 13. P. 1439–1447. DOI: https://doi.org/10.1001/jama.1957.02980130015004
22. Kahaly G.J., Gottwald-Hostalek U. Use of levothyroxine in the management of hypothyroidism: a historical perspective. *Frontiers in Endocrinology.* 2022. 1054983 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1054983
23. Шепітько В.І. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки та вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів [дисертація]. Харків, 2004. 326 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/
24. Беспалова І.Г. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свині та шкіри поросяти. [дисертація]. Харків, 2016. 162 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/
25. Глоба В.Ю. Використання кріоконсервованих клітинних культур і нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції. [дисертація]. Харків, 2021. 156 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/
26. 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). С. 416–25. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425
27. Zar J.H. Biostatistical analysis. (5 ed.). Englewood: Prentice-Hall, 2014. 960 p.

21. 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
22. 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
23. Shepitko VI. 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]. Kharkiv, 2004:326. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/
24. Bespalova IG. Peptide composition and biological action of extracts of cryopreserved pig spleen fragments and piglet skin. [dissertation]. Kharkiv, 2016:162. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/
25. Globa VYu. Use of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction. [dissertation]. Kharkiv, 2021:156. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/
26. 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. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425
27. Zar J.H. Biostatistical analysis. (5 ed.). Englewood: Prentice-Hall, 2014:960.

Перспективи подальших досліджень

Доцільно дослідити можливість комбінації КЕП, КЕС та КС-МСК з L-тироксином для досягнення більш вираженого терапевтичного ефекту. Крім того, необхідно оцінити довготривалі результати лікування та його вплив на інші метаболічні процеси в організмі. Важливо також дослідити потенціал цих препаратів для лікування інших захворювань щитоподібної залози, що відкриває нові можливості для терапії та профілактики таких порушень.

Prospects for further research

It would be valuable to investigate the possibility of combining CEP, CES, and MSC-CM with L-thyroxine to achieve a more pronounced therapeutic effect. Furthermore, it is important to assess the long-term results of treatment and its impact on other metabolic processes in the body. Additionally, exploring the potential of these drugs for treating other thyroid disorders could open up new opportunities for therapy and prevention of such conditions.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously declare the absence of any actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, or other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject matter of the submitted materials or that sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки 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, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

Funding information

The article is a fragment of the planned scientific research work of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology at V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, titled «Study of the role of immune, autoimmune, and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process caused by bacteria, viruses, and viral-bacterial associations in acute, prolonged, and chronic disease courses, and improvement of treatment strategies», state registration number 0123U105022, execution period: 2023–2028, leader – Head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; старший науковий співробітник відділу променевої патології та паліативної медицини Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
моб.: +38 (099) 782-78-72
Внесок автора: *ідея роботи, формулювання мети, виконання експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання тексту рукопису.*

Лядова Тетяна Іванівна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, декан медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: t.lyadova@karazin.ua
моб.: +38 (050) 692-56-41
Внесок автора: *підбор літературних джерел, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine», Doctoral student (Doctor of Sciences) of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
tel.: +38 (099) 782-78-72
Author's contribution: *the idea of the study, formulation of the purpose, conducting experimental research, analysis and generalization of the obtained results, writing the manuscript.*

Liadova Tetyana Ivanivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Dean of the School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: t.lyadova@karazin.ua
tel.: +38 (050) 692-56-41
Author's contribution: *selection of literature sources, participation in the discussion of the obtained results, editing the article text.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received*	Отримано після рецензування *Received after review*	Прийнято до друку *Accepted for printing*	Опубліковано *Published*
01.10.2024	05.10.2024	22.11.2024	30.12.2024