



В. О. Студент^{1,2,3}, ORCID: 0000-0002-0928-2695

Ф. В. Гладких^{1,4}, ORCID: 0000-0001-7924-4048

Т. І. Лядова¹, ORCID: 0000-0002-5892-2599

М. С. Матвєєнко¹, ORCID: 0000-0002-0388-138X

¹ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ІМЕНІ В. Н. КАРАЗИНА МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

²КОМУНАЛЬНИЙ ЗАКЛАД ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ РАДИ

«ЛЬВІВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ФАХОВИЙ КОЛЕДЖ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ»

³ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ

«МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР ЗД ДІАГНОСТИКА»

⁴ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ МЕДИЧНОЇ РАДІОЛОГІЇ

ТА ОНКОЛОГІЇ ІМЕНІ С. П. ГРИГОР'ЄВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

ПОТЕНЦІЮВАННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НІМЕСУЛІДУ ТА КЕТОРОЛАКУ БЕЗКЛІТИННИМИ КРІОКОНСЕРВОВАНИМИ БІОЛОГІЧНИМИ ЗАСОБАМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ

Вступ. Ревматоїдний артрит є однією з провідних причин хронічного болю, прогресуючої втрати функції суглобів та зниження якості життя. Перспективним підходом вважають біотехнологічне потенціювання дії нестероїдних протизапальних засобів безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами, зокрема кріоекстрактом плаценти та кондиціонованим середовищем мезенхімальних стромальних клітин.

Мета роботи – оцінити вплив застосування кріоекстракту плаценти та кондиціонованого середовища мезенхімальних стромальних клітин на протизапальну ефективність німесулідів та кеторолаку за умов експериментального ревматоїдного артриту в щурів за даними гематологічних та біохімічних досліджень.

Методи дослідження. Ад'ювантний артрит моделювали в щурів введенням повного ад'юванта Фрейнда. Дослідження проведено на 42 щурах-самцях, рандомізованих на шість груп. Лікування проводили з 14-ї по 28-му добу: німесулід і кеторолак вводили внутрішньошлунково, кріоекстракт плаценти та кондиціоноване середовище мезенхімальних стромальних клітин вводили внутрішньом'язово через кожні дві доби. На 28-му добу визначали кількість лейкоцитів, швидкість осідання еритроцитів і концентрацію С-реактивного білка.

Результати й обговорення. У контрольній групі без лікування сформувалася виражена системна запальна відповідь: лейкоцитоз понад $21 \times 10^9/\text{л}$, підвищення швидкості осідання еритроцитів майже в 4 рази та зростання С-реактивного білка до $19,0 \text{ мг/л}$. Монотерапія німесулідом знижувала лейкоцитоз до $13,1 \times 10^9/\text{л}$, швидкість осідання еритроцитів до $12,0 \text{ мм/год}$ та С-реактивний білок до $14,0 \text{ мг/л}$, однак показники залишалися вищими за інтактні. Поєднання німесулідів з кріоекстрактом плаценти забезпечувало більш виразну нормалізацію: лейкоцити знижувалися до $8,3 \times 10^9/\text{л}$, швидкість осідання еритроцитів до $6,0 \text{ мм/год}$, С-реактивний білок – до $9,6 \text{ мг/л}$. Кеторолак у монотерапії проявляв обмежений ефект, а комбінація кеторолаку з кондиціонованим середовищем мезенхімальних стромальних клітин була найбільш ефективною, з наближенням лейкоцитів і швидкості осідання еритроцитів до інтактних значень та зниженням С-реактивного білка до $11,9 \text{ мг/л}$.

Висновки. За умов ад'ювантного артриту в щурів встановлено, що монотерапія німесулідом та кеторолаком забезпечує лише часткове зниження показників системної запальної відповіді. Додавання кріоекстракту плаценти до німесулідів та кондиціонованого середовища мезенхімальних стромальних клітин до кеторолаку супроводжується більш вираженим зменшенням лейкоцитозу, уповільненням швидкості осідання еритроцитів і зниженням рівня С-реактивного білка порівняно з монотерапією НПЗЗ. Отримані результати свідчать, що безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби потенціюють протизапальну ефективність німесулідів та кеторолаку за умов експериментального артриту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний ревматоїдний артрит; нестероїдні протизапальні засоби; безклітинні біологічні засоби; кріоконсервування; плацента; мезенхімальні стромальні клітини; кондиціоноване середовище.

© В. О. Студент, Ф. В. Гладких,
Т. І. Лядова, М. С. Матвєєнко, 2026

ВСТУП. Ревматоїдний артрит (далі – РА) залишається однією з провідних причин хронічного болю, прогресуючої втрати функції суглобів та зниження якості життя. Сучасні уявлення розглядають РА як мультифакторне автоімунне захворювання, в якому генетичні й епігенетичні чинники, імуноетаболічні зсуви та порушення міжклітинної комунікації формують стійкий запальний фенотип із тенденцією до хронізації та ремоделювання тканин [1].

Попри значний прогрес у застосуванні хворобомодифікувальних протиревматичних препаратів, нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) залишаються важливим складником симптоматичної терапії, оскільки швидко зменшують біль, набряк і функціональні обмеження, підвищуючи прихильність пацієнтів до базисного лікування. Однак протизапальний потенціал НПЗЗ у контексті імунозапальних ендотипів РА часто є недостатнім для повної нормалізації системних маркерів запалення, а їх тривале або інтенсивне застосування обмежується ризиками небажаних реакцій. Тому актуальною є стратегія «потенціювання» протизапальної та анальгетичної дії НПЗЗ шляхом комбінування із засобами, здатними модулювати ключові патогенетичні ланки РА та/або зменшувати потребу у високих дозах симптоматичних препаратів [2].

У цьому контексті зростає інтерес до застосування безклітинних біологічних засобів – секретомів, кондиціонованих середовищ і тканинних екстрактів, що містять полікомпонентні комплекси біоактивних молекул (цитокіни, фактори росту, ліпідні медіатори, пептиди), а також фракції позаклітинних везикул. У низці досліджень підкреслено, що терапевтичні ефекти мезенхімальних стромальних клітин (МСК) значною мірою реалізуються через паракринні механізми [3]. Спеціалізовані огляди саме щодо РА підкреслюють перспективність використання МСК та МСК-похідних (включно з позаклітинними везикулами) як засобів корекції системної імунної дисрегуляції [4]. Окремо показано, що МСК-екзосоми розглядаються як носії протизапальних і репаративних сигналів, здатні зменшувати запалення, підтримувати відновлення тканин і впливати на больовий компонент запальних артропатій [5].

Паралельним напрямом є використання тканинних біологічних продуктів, зокрема плацентарних екстрактів як джерела широкого спектра регуляторних молекул. Для дегенеративних та запальних уражень

суглобів описано потенційні протизапальні та симптом-модифікуючі ефекти плацентарних екстрактів як мультимодальних біорегуляторів, що може бути релевантним для комбінованих схем, спрямованих на зменшення запальної активності та поліпшення функціонального стану [6; 7].

Таким чином, поєднання НПЗЗ із безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами (БКБЗ), зокрема з кріоекстрактом плаценти (КЕП) та кондиціонованим середовищем МСК (КС-МСК) може розглядатися як патогенетично обґрунтована стратегія – НПЗЗ забезпечують швидкий контроль болю та протизапальних компонентів запалення, тоді як безклітинні біопродукти потенційно впливають на ширші імунні мережі та клітинну кооперацію за хронізації запалення. Важливо, що експериментальні моделі ад'ювантного артриту (АА) відтворюють низку ключових рис імунозапального процесу та системної запальної відповіді, що робить їх придатними для оцінювання комбінованих протизапальних стратегій і порівняння ефективності різних фармако-біотехнологічних схем.

З огляду на викладене, дослідження біотехнологічного потенціювання протизапальної ефективності широковживаних НПЗЗ – німесуліді (НІМ) та кеторолаку (КЕТ) застосуванням БКБЗ є актуальним для експериментальної фармакології та трансляційної медицини. Воно дозволяє: (1) кількісно оцінити внесок комбінованих підходів у зниження системних маркерів запалення; (2) порівняти «силу» потенціювання між різними біологічними компонентами (плацентарний екстракт і КС-МСК); (3) обґрунтувати подальші дослідження оптимізації режимів введення та потенційного зниження навантаження НПЗЗ без втрати клінічно значущого ефекту.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – оцінити вплив застосування кріоекстракту плаценти та кондиціонованого середовища мезенхімальних стромальних клітин на протизапальну ефективність німесуліді та кеторолаку за умов експериментального артриту в щурів за даними гематологічних та біохімічних досліджень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проведено згідно з вимогами належної лабораторної практики «GLP» (*Good Laboratory Practice*), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних

тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та ін.). Дослідження схвалено Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна МОН України (витяг з протоколу № 2/3 від 10 грудня 2025 р.).

У дослідженні застосовували два типи БКБЗ: КЕП та КС-МСК. Кожен із препаратів отримували за стандартизованими біотехнологічними протоколами з дотриманням вимог асептики, біобезпеки та криозбереження, що гарантувало збереження біологічної активності низькомолекулярних пептидів, цитокінів, факторів росту та інших функціонально значущих компонентів [11].

Для моделювання АА в щурів застосовували повний ад'ювант Фрейнда (ПАФ; *Thermo Fisher Scientific, США*). Ін'єкцію виконували в субплантарну ділянку задньої лівої кінцівки, між II і III пальцями [2].

День введення ПАФ вважали початком експерименту («0» день). Лікування АА проводили з 14-ї по 28-му добу. Досліджувані БКБЗ та НПЗЗ вводили через кожні 2 доби (усього 5 ін'єкцій) внутрішньом'язово (в/м) та внутрішньошлунково (в/шл) відповідно. НІМ та КЕТ вводили на 14, 17, 20, 23 та 26 дні

експерименту у вигляді водно-полісорбатної суспензії на Tween-80 [8].

Дослідження проведено на 42 щурах-самцях (200–220 г), рандомізованих на 6 груп (табл. 1) по 7 тварин за індивідуальною больовою чутливістю, визначеною попередньо за дії термічного подразника.

На 28-му добу тварин виводили з експерименту шляхом декапітації [14], після чого відбирали змішану венозно-артеріальну кров. У щурів з АА визначали показники системної запальної відповіді – кількість лейкоцитів у периферичній крові ($\times 10^9/\text{л}$), швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ, мм/год) та концентрацію С-реактивного білка (мг/л). Матеріалом дослідження слугували цільна кров та сироватка крові. Кров відбирали в центрифужні пробірки, сироватку виділяли центрифугуванням протягом 15 хв за 3000 об/хв.

Кількість лейкоцитів визначали в периферичній крові за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора. Результати виражали як абсолютну кількість клітин у $\times 10^9/\text{л}$. Об'єкт і одиниці вимірювання: цільна кров – $\times 10^9/\text{л}$ [15].

Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) визначали за методом Т.П. Панченкова (1924 р.) у капілярі довжиною 100 мм із цитратом натрію (3,8 %) як антикоагулянтом. Показник фіксували через 1 год за висотою плазмового стовпчика. Об'єкт і одиниці вимірювання: цільна кров – мм/год [15].

Рівень С-реактивного білка (С-РБ) визначали латексним діагностичним тестом за аглютинацією. Об'єкт і одиниці вимірювання: сироватка крові – мг/л [16].

Методи статистичного оброблення. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили із застосуванням програмного

Таблиця 1 – Розподіл експериментальних тварин за групами та умовами моделювання і лікування АА (N=42)

Група	n	Умови експерименту
I	7	Інтактні щури, яким на 14, 17, 20, 23 та 26-й дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура [9]
II	7	Щури зі змодельованим АА без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг [9];
III	7	Щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту в/шл вводили НІМ у дозі 10,0 мг/кг [10];
IV	7	Щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту нарізно вводили: КЕП в/м у дозі 2,5 мл/кг [11] та через 60 хв – в/шл вводили НІМ у дозі 10,0 мг/кг [10];
V	7	Щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту в/шл вводили КЕТ у дозі 5,6 мг/кг [13];
VI	7	Щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [12] та через 60 хв – в/шл вводили КЕТ у дозі 5,6 мг/кг [13];

пакета «Microsoft Office Excel», що забезпечувало первинне оброблення даних, розрахунок основних параметрів варіаційної статистики та побудову графіків для візуалізації результатів. Характер розподілу вибірок оцінювали за допомогою W-критерію Шапіро-Вілка (*Shapiro–Wilk test*, $n < 50$), який вважається найбільш чутливим для невеликих вибірок та дозволяє визначати відповідність емпіричних даних закону нормального розподілу. Однорідність дисперсій перевіряли за критерієм Левена (*Levene's test*). У разі підтвердження нормальності розподілу відмінності між незалежними вибірками визначали за допомогою t-критерію Ст'юдента, який дає змогу оцінити середні значення та їх відмінності з урахуванням стандартної похибки. Якщо ж дані не відповідали умовам нормального розподілу, застосовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні (*Mann-Whitney test*), що дозволяє коректно порівнювати вибірки за ранговими показниками. Рівень статистичної вірогідності результатів визначали за загальноприйнятими значеннями: $p < 0,05$. Для графічної ілюстрації отриманих результатів застосовували «шухлядові» діаграми з «вусами» (*box-and-whiskers plots*) [17].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що у щурів з АА на 28-й день

формується виражені прояви системної запальної відповіді, що відображалось зростанням як клітинних, так і гуморальних маркерів запалення. Аналіз ШОЕ продемонстрував суттєве її прискорення у тварин контрольної групи порівняно з інтактними, що підтверджує високу активність хронічного запального процесу (рис. 1).

В інтактних тварин цей показник залишався в межах фізіологічної норми, тоді як у щурів з АА без лікування ШОЕ підвищувалася майже в чотири рази, що супроводжувалося значним зростанням кількості лейкоцитів у периферичній крові (рис. 2).

Лейкоцитоз у цій групі сягав понад $21 \times 10^9/\text{л}$, що у 2,7 рази перевищувало фізіологічний рівень. Паралельно реєструвалося зростання концентрації С-реактивного білка (СРБ), який є ключовим маркером системної запальної відповіді, з 5,3 мг/л в інтактних тварин до 19,0 мг/л у щурів контрольної групи (рис. 3). Такі зміни в сукупності відображають формування активної фази імунно-запального процесу в умовах АА.

Застосування німесулід у сприяло помірному зниженню вираженості запалення. Зокрема, у групі тварин, яким вводили НІМ, відзначалося зниження кількості лейкоцитів

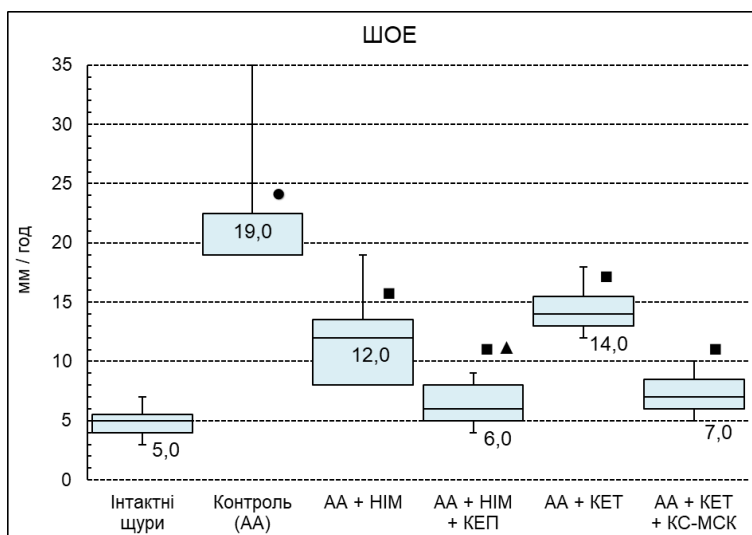


Рис. 1. Вплив НІМ та КЕТ у поєднанні з КЕП та КС-МСК на швидкість осідання еритроцитів у щурів з АА

Примітки:

1. Розподіл величин непараметричний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування (контрольна група);
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, яким вводили НІМ.

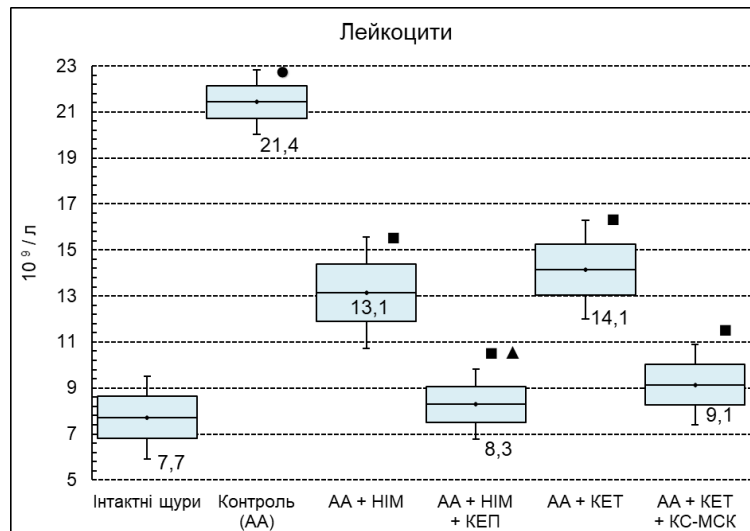


Рис. 2. Вплив НІМ та КЕТ у поєднанні з КЕП та КС-МСК на кількість лейкоцитів у щурів з АА

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування (контрольна група).
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, яким вводили НІМ.

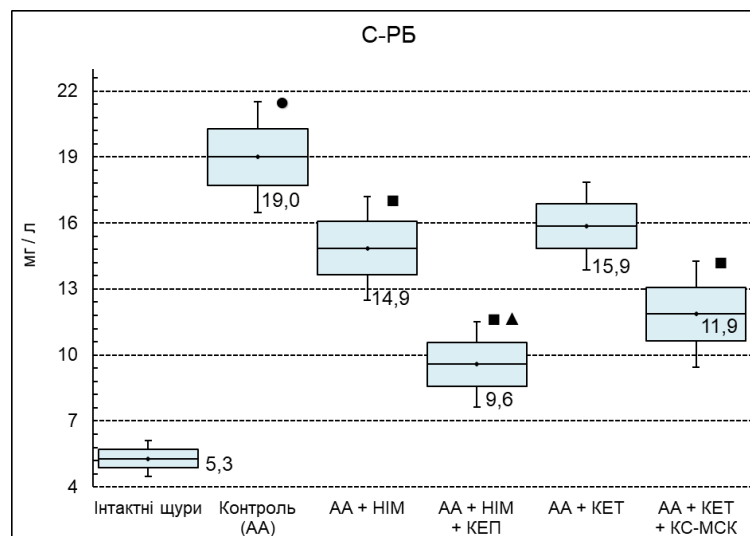


Рис. 3. Вплив НІМ та КЕТ у поєднанні з КЕП та КС-МСК на рівень С-реактивного білка у щурів з АА

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування (контрольна група).
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, яким вводили НІМ.

до $13,1 \times 10^9/\text{л}$, що на 38,7 % менше порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0,001$). Водночас ШОЕ в цій групі зменшилася до 12,0 мм/год, а рівень СРБ – до 14,9 мг/л, що відповідало зниженню на 36,8 % та 21,8 %

відповідно відносно щурів без лікування. Проте, порівняно з інтактними тваринами, усі показники залишалися суттєво вищими, що свідчить про часткову, але неповну протизапальну дію монотерапії НІМ (див. рис. 1–3).

Більш виражені зміни простежувалися в разі поєднання НІМ з КЕП. У групі щурів, яким вводили цю комбінацію, рівень лейкоцитів знизився до $8,3 \times 10^9/\text{л}$ (на 61,3 % відносно контрольної групи, $p < 0,001$), що було близьким до показників інтактних тварин ($p > 0,05$). Водночас ШОЕ становила 6,0 мм/год, що на 68,4 % нижче порівняно з АА без лікування ($p < 0,001$) і лише на 1,0 мм перевищувало показник інтактних тварин. Найбільш переконливим був результат щодо СРБ – його рівень знизився до 9,6 мг/л (на 49,6 % відносно контрольної групи, $p < 0,001$). Таким чином, додавання КЕП до НІМ забезпечувало виразне зниження як клітинних, так і гуморальних маркерів запалення (див. рис. 1–3).

Кеторолак у монотерапії також продемонстрував протизапальний ефект, проте менш виражений, ніж у поєднанні з БКБЗ. У щурів, яким вводили КЕТ, кількість лейкоцитів знизилася до $14,1 \times 10^9/\text{л}$ (на 34,0 % відносно контрольної групи, $p < 0,001$). ШОЕ у цій групі становила 14,0 мм/год, що на 26,3 % нижче показників тварин без лікування ($p < 0,001$), але залишалася у 2,8 раза вищою від інтактного рівня. Рівень СРБ знизився до 15,9 мг/л (на 16,5 % відносно контрольної групи), хоча статистична вірогідність цієї різниці була менш переконливою ($p = 0,08$). Таким чином, КЕТ знижував активність запалення, проте його ефект залишався обмеженим.

Комбінація КЕТ з КС-МСК характеризувалася найбільшою ефективністю серед усіх досліджуваних схем. Лейкоцити в цій групі знижувалися до $9,1 \times 10^9/\text{л}$, що на 57,3 % менше порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,001$), а також не відрізнялися від показників інтактних щурів ($p > 0,05$). ШОЕ становила 7,0 мм/год, що на 63,2 % нижче рівня контрольної групи ($p < 0,001$), і була лише незначно підвищеною відносно інтактних тварин. Концентрація СРБ у цій групі знизилася до 11,9 мг/л, що відповідало зменшенню на 37,6 % порівняно з АА без лікування ($p = 0,002$).

Отримані результати дозволяють інтегративно оцінити ефективність досліджуваних схем. Поєднання НІМ з КЕП та КЕТ з КС-МСК забезпечувало найбільш виражений протизапальний ефект, що проявлявся зменшенням лейкоцитозу, уповільненням ШОЕ та зниженням СРБ. При цьому ефект був не лише статистично достовірним, але й клінічно значущим, оскільки дозволяв наблизити показники до рівня інтактних тварин. Монотерапія НІМ чи КЕТ виявилася менш

ефективною, що підкреслює переваги комбінованого застосування НПЗП з БКБЗ.

Отримані нами дані свідчать, що за умов АА у щурів на 28-му добу формується виражена системна запальна відповідь (лейкоцитоз, прискорення ШОЕ, підвищення рівня СРБ), тоді як монотерапія НПЗП забезпечує лише часткове пригнічення запалення. Така «неповнота» протизапального ефекту симптоматичних препаратів є логічною з позицій сучасних уявлень про РА як про захворювання з багаторівневою імунною дисрегуляцією та стійкими цитокиновими мережами, де інгібування циклооксигеназного каскаду не перекриває ключових імунозалежних механізмів хронізації. У цьому сенсі показане нами суттєвіше зниження системних маркерів запалення за комбінованих підходів узгоджується з трендом останніх років на пошук «клітинно/секретом-орієнтованих» біологічних модифікаторів запалення за артритів.

Найбільш виражене наближення показників до рівня інтактних тварин у групах комбінованої терапії (НІМ + КЕП та КЕТ + КС-МСК) узгоджується з даними, що протизапальні ефекти МСК значною мірою опосередковуються паракринними механізмами, тобто їх секретомом/позаклітинними везикулами [3]. Експериментальні роботи на моделях артриту демонструють, що екзосоми / везикули МСК можуть знижувати активність Th17-запалення та підтримувати імунорегуляторні осі (наприклад, посилення IL-10-залежних механізмів і зсув у бік регуляторних фенотипів), що зрештою відображається в зменшенні запальних проявів та ушкодження суглобів. Зокрема, на моделі колаген-індукованого артриту було показано імуномодульвальний потенціал екзосом гінгівальних МСК із пригніченням прозапальних сигналів та посиленням протизапальних [18]. Аналогічно, екзосоми МСК пуповини на цій же моделі асоціювалися з відновленням балансу Th17/Treg, що є патогенетично релевантним для РА-подібного запалення [19]. Важливо, що існують і дані про «мікроРНК-опосередкований» ефект екзосом МСК у щурів з РА-подібним ураженням суглобів (наприклад, екзосомальна miR-140-3p зі зниженням ушкодження суглобів) [20]. Сукупно це добре пояснює, чому в нашій роботі додавання КС-МСК до КЕТ супроводжувалося більшою нормалізацією системних маркерів запалення, ніж монотерапія НПЗП: біологічний компонент потенційно «закриває» частину імунних механізмів, які НПЗП не модулюють.

Щодо КЕП, то отриманий нами ефект потенціювання дії НІМ узгоджується з уявленням про плацентарні екстракти як мультимодальні біорегулятори з антиоксидантними, протизапальними та потенційно репаративними властивостями. У клініко-орієнтованих оглядах плацентарні екстракти розглядають як перспективні засоби для суглобової патології з акцентом на пригнічення кatabолічних програм і прозапальних сигналів [6].

Таким чином, системний аналіз показників гематологічних та біохімічних маркерів запалення підтверджує, що комбінація НІМ з КЕП та КЕТ з КС-МСК значно перевершує за ефективністю монотерапію кожним із препаратів. Це вказує на патогенетичну доцільність використання БКБЗ для посилення протизапальної дії НПЗП та зменшення проявів системної запальної відповіді за АА.

ВИСНОВКИ. За умов ад'ювантного артриту в щурів встановлено, що монотерапія німесулідом та кеторолаком забезпечує лише часткове зниження показників системної запальної відповіді. Монотерапія німесулідом зменшувала лейкоцитоз на 38,7 % і рівень С-реактивного білка на 21,8 %, тоді як комбінація німесуліду з кріоекстрактом плаценти – на 61,3 % і 49,6 % відповідно ($p < 0,001$). Кеторолак знижував вираженість запалення на 34,0 %, тоді як його поєднання з кондиціонованим середовищем мезенхімальних стромальних клітин – на 57,3 % та 37,6 % відповідно ($p \leq 0,002$). Таким чином, додавання безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів супроводжується більш вираженим зменшенням лейкоцитозу, уповільненням швидкості осідання еритроцитів та зниженням рівня С-реактивного білка порівняно з монотерапією НПЗП, що свідчить про потенціювання їх протизапальної ефективності за умов експериментального артриту.

ІНФОРМАЦІЯ ЩОДО КОНФЛІКТУ ІНТЕРЕСІВ: відсутній.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО ФІНАНСУВАННЯ: МОН України фінансував виконання планової науково-дослідної роботи «Клініко-патогенетичні особливості, удосконалення діагностики, прогнозування ускладнень та індивідуалізація лікувальних стратегій при травматичних ушкодженнях». Номер державної реєстрації 0125U002755; власні кошти.

ВНЕСОК КОЖНОГО З АВТОРІВ: Студент В. О. – концептуалізація, дослідження, написання – оригінальний проєкт, перегляд і редагування; Гладких Ф. В. – дослідження, методологія; Матвєєнко М. С. – формальний аналіз; Лядова Т. І. – адміністрування проєкту.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО ДОСТУПНІСТЬ ПЕРВИННИХ ДАНИХ: Первинні дані, що підтверджують результати цього дослідження доступні за обґрунтованим запитом до авторів, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОРИСТАННЯ ШТУЧНОГО ІНТЕЛЕКТУ: Автори рукопису засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

ВІДПОВІДНІСТЬ МАТЕРІАЛІВ СТАТТІ ЩОДО ПРОВЕДЕННЯ ОБСТЕЖЕНЬ/ДОСЛІДЖЕНЬ/ЛІКУВАННЯ НОРМАМ БІОЕТИКИ: Експериментальні дослідження проведено згідно з вимогами належної лабораторної практики «GLP» (Good Laboratory Practice), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та ін.). Дослідження схвалено Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна МОН України (протокол № 2/3 від 10 грудня 2025 р.).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gao, Y., Zhang, Y., & Liu, X. (2024). Rheumatoid arthritis: Pathogenesis and therapeutic advances. *MedComm*, 5 (3), e509. DOI: <https://doi.org/10.1002/mco2.509>
2. Hladkykh, F. V. (2022). Nesteroidni protyzapalni zasoby: terapevtychni ta nebazhani efekty, shliakhy yikh optymizatsii. Vinnytsia: Tvory. DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
3. Munoz-Perez, E., Gonzalez-Pujana, A., Igarua, M., Santos-Vizcaino, E., & Hernandez, R. M. (2021). Mesenchymal stromal cell secretome for the treatment of immune-mediated inflammatory diseases: Latest trends in isolation, content optimization and delivery avenues. *Pharmaceutics*, 13 (11), 1802. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111802>
4. Gao, Y. F., Zhao, N., & Hu, C. H. (2025). Harnessing mesenchymal stem/stromal cells-based therapies for rheumatoid arthritis: Mechanisms, clinical applications, and microenvironmental interactions. *Stem Cell Research & Therapy*, 16 (1), 379. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04495-z>
5. Aghajani, S., Maboudi, S. A., Seyhoun, I., Nia, R. R., Shabestari, A. N., Sharif, S., Daneshi, M., & Verdi, J. (2025). Review of mesenchymal stem cell-derived exosomes and their potential therapeutic roles in treating rheumatoid arthritis. *Molecular Biology Reports*, 52 (1), 229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10290-z>
6. Gwam, C., Ohanele, C., Hamby, J., Chughtai, N., Mufti, Z., & Ma, X. (2023). Human placental extract: A potential therapeutic in treating osteoarthritis. *Annals of Translational Medicine*, 11 (9), 322. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm.2019.10.20>
7. Student, V. O., Hladkykh, F. V., & Liadova, T. I. (2025). Placental extracts as a multicomponent regulatory system: technological approaches to obtaining and multilevel impact on cellular, tissue and organ functionality. *Clinical and Preventive Medicine*, 8 (46), 118–133. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.8.2025.13> [in Ukrainian].
8. Schwartzberg, L. S., & Navari, R. M. (2018). Safety of polysorbate 80 in the oncology setting. *Advances in Therapy*, 35 (6), 754–767. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12325-018-0707-z>
9. Stefanov, O. V. (Ed.). (2001). Preclinical studies of medicinal products: methodological recommendations. Kyiv: Avicenna, 2001. 527 p. DOI: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77> [in Ukrainian].
10. Du, F., Lü, L. J., Fu, Q., Dai, M., Teng, J. L., Fan, W., Chen, S. L., Ye, P., Shen, N., Huang, X. F., Qian, J., & Bao, C. D. (2008). T-614, a novel immunomodulator, attenuates joint inflammation and articular damage in collagen-induced arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 10 (6), R136. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar2554>
11. Hladkykh, F. V. (2026). Pathogenetic justification for the use of cell-free cryopreserved biological agents in the experimental therapy of autoimmune diseases (Doctoral dissertation, V. N. Karazin Kharkiv National University). <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0525U000539> [in Ukrainian].
12. Hladkykh, F. V. (2024). Assessment of the influence of the conditioned medium of mesenchymal stem cells and cryoextracts of biological tissues on the manifestations of cytolytic syndrome in experimental autoimmune hepatitis. *Odessa Medical Journal*. 2024. No. 6 (191). P. 45–50. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8> [in Ukrainian].
13. Aviles-Herrera, J., Angeles-Lopez, G. E., Deciga-Campos, M., Gonzalez-Trujano, M. E., Moreno-Perez, G. F., Reyes-Chilpa, R., Romero, I., Alejo-Martinez, A., & Ventura-Martinez, R. (2025). Quercetin reduces antinociceptive but not the anti-inflammatory effects of indomethacin, ketorolac, and celecoxib in rats with gout-like pain. *Molecules*, 30 (15), 3196. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules30153196>
14. American Veterinary Medical Association. (2020). AVMA guidelines for the euthanasia of animals (2020 ed.). Schaumburg, IL: Author.
15. Vorobel, A. V., Hrytsuliak, B., Hlodan, O. Ya., & Khallo, O. Ye. (2013). Cytological and laboratory techniques and diagnostics. Ivano-Frankivsk: Play, 2013. 165 p. <https://kafit.pnu.edu.ua/> [in Ukrainian]
16. Panteghini, M. (2023). Developments in reference measurement systems for C-reactive protein and the importance of maintaining currently used clinical decision-making criteria. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61 (9), 1537–1539. DOI: <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0558>
17. Zar, J. H. (2014). Biostatistical analysis (5th ed.). Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
18. Tian, X., Wei, W., Cao, Y., Ao, T., Huang, F., Javed, R., Wang, X., Fan, J., Zhang, Y., Liu, Y., Lai, L., & Ao, Q. (2022). Gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes are immunosuppressive in preventing collagen-induced arthritis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26 (3), 693–708. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17086>
19. Fu, Y., Li, J., Zhang, Z., Ren, F., Wang, Y., Jia, H., Liu, J., & Chang, Z. (2022). Umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate collagen-induced arthritis by balancing the population of Th17 and regulatory T cells. *FEBS Letters*, 596 (20), 2668–2677. DOI: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14460>
20. Huang, Y., Chen, L., Chen, D., Fan, P., & Yu, H. (2022). Exosomal microRNA-140-3p from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates joint injury in rats with rheumatoid arthritis by silencing SGK1. *Molecular Medicine*, 28 (1), 36. DOI: <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00451-2>

Адреса для листування: student.volodymyr@gmail.com

V. O. Student^{1,2,3}, F. V. Hladkykh^{1,4}, T. I. Liadova¹, M. S. Matvieienko¹

¹V. N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY OF THE MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE

²MUNICIPAL INSTITUTION OF THE LVIV REGIONAL COUNCIL

"LVIV MEDICAL APPLIED COLLEGE OF POSTGRADUATE EDUCATION"

³MEDICAL DIRECTOR, LLC "CENTER OF MEDICAL 3D DIAGNOSTICS"

⁴STATE ORGANIZATION "GRIGORIEV INSTITUTE FOR MEDICAL RADIOLOGY AND ONCOLOGY OF THE NATIONAL ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE"

POTENTIATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF NIMESULIDE AND KETOROLAC BY CELL-FREE CRYOPRESERVED BIOLOGICAL PRODUCTS IN EXPERIMENTAL RHEUMATOID ARTHRITIS

Summary

Introduction. Rheumatoid arthritis remains one of the leading causes of chronic pain, progressive joint dysfunction, and reduced quality of life. A promising strategy involves biotechnological potentiation of the therapeutic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs using cell-free cryopreserved biological products, particularly placental cryoextract and conditioned medium derived from mesenchymal stromal cells.

The Aim of the Study – to evaluate the effect of placental cryoextract and mesenchymal stromal cell conditioned medium on the anti-inflammatory efficacy of nimesulide and ketorolac under conditions of experimental rheumatoid arthritis in rats, based on hematological and biochemical parameters.

Research Methods. Adjuvant arthritis was induced in rats by administration of complete Freund's adjuvant. The study involved forty-two male rats randomized into six groups. Treatment was administered from day 14 to day 28: nimesulide and ketorolac were given intragastrically, while placental cryoextract and mesenchymal stromal cell conditioned medium were administered intramuscularly every two days. On day 28, leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and C-reactive protein concentration were determined.

Results and Discussion. In the untreated control group, a pronounced systemic inflammatory response developed, characterized by leukocytosis exceeding $21 \times 10^9/L$, an almost fourfold increase in the erythrocyte sedimentation rate, and an elevation of C-reactive protein to 19.0 mg/L. Nimesulide monotherapy reduced leukocyte counts to $13.1 \times 10^9/L$, decreased the erythrocyte sedimentation rate to 12.0 mm/h, and lowered C-reactive protein levels to 14.0 mg/L; however, these parameters remained higher than those observed in intact animals. The combination of nimesulide with placental cryoextract resulted in a more pronounced normalization, with leukocyte counts decreasing to $8.3 \times 10^9/L$, erythrocyte sedimentation rate to 6.0 mm/h, and C-reactive protein to 9.6 mg/L. Ketorolac monotherapy demonstrated a limited effect, whereas its combination with mesenchymal stromal cell conditioned medium showed the greatest efficacy, approaching intact values for leukocyte counts and erythrocyte sedimentation rate and reducing C-reactive protein levels to 11.9 mg/L.

Conclusions. Under conditions of adjuvant-induced arthritis in rats, it was established that monotherapy with nimesulide and ketorolac provides only partial reduction of systemic inflammatory response parameters. The addition of placental cryoextract to nimesulide and mesenchymal stromal cell conditioned medium to ketorolac was associated with a more pronounced decrease in leukocytosis, a reduction in erythrocyte sedimentation rate, and a decrease in C-reactive protein levels compared with NSAID monotherapy. The obtained results indicate that cell-free cryopreserved biological products potentiate the anti-inflammatory efficacy of nimesulide and ketorolac under experimental arthritis conditions.

KEY WORDS: experimental rheumatoid arthritis; nonsteroidal anti-inflammatory drugs; cell-free biological products; cryopreservation; placenta; mesenchymal stromal cells; conditioned medium.

Дата першого надходження статті до видання: 23.01.2026

Дата прийняття статті до друку після рецензування: 19.02.2026

Дата публікації (оприлюднення) статті: 00.00.00