

DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2025-16-05>
УДК: 616.72-002.77:615.276



Конусно-променева томографічна оцінка модуляції протизапальної дії німесуліді та кеторолаку безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами при експериментальному ревматоїдному артриті

Студент В.О.^{1,2,3}, <https://orcid.org/0000-0002-0928-2695>, e-mail: student.volodymyr@gmail.com
Гладких Ф.В.^{1,4}, <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
Матвієнко М.С.¹, <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

²Комунальний заклад Львівської обласної ради

«Львівський медичний фаховий коледж післядипломної освіти», Львів, Україна

³Товариство з обмеженою відповідальністю

«Медичний центр 3D Діагностика», Львів, Україна

⁴Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Cone-beam tomographic evaluation of the modulation of the anti-inflammatory effect of nimesulide and ketorolac by cell-free cryopreserved biological agents in experimental rheumatoid arthritis

Student V.O.^{1,2,3}, <https://orcid.org/0000-0002-0928-2695>, e-mail: student.volodymyr@gmail.com
Hladkykh F.V.^{1,4}, <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
Matvieienko M.S.¹, <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

¹V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²Municipal Institution of the Lviv Regional Council

«Lviv Medical Applied College of Postgraduate Education», Lviv, Ukraine

³Limited Liability Company «Center of Medical 3D Diagnostics», Lviv, Ukraine

⁴State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

ревматоїдний артрит, нестероїдні протизапальні засоби, безклітинні біологічні засоби, кріоконсервування, плацента, мезенхімальні стовбурові клітини, кондиціоноване середовище, конусно-променева комп'ютерна томографія.

Для кореспонденції:

Студент Володимир Омелянович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: student.volodymyr@gmail.com

© Студент В.О., Гладких Ф.В.,
Лядова Т.І., Матвієнко М.С., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Ревматоїдний артрит є хронічним системним імунізапальним захворюванням, що супроводжується прогресуючим ураженням суглобів, ремоделюванням кісткової тканини та стійкою функціональною недостатністю. Нестероїдні протизапальні препарати широко застосовуються для контролю болю і запалення, однак їх дія обмежується переважно медіаторною ланкою запалення і не впливає на ключові імуніпатогенетичні механізми. У зв'язку з цим актуальним є пошук комбінованих підходів, що поєднують фармакологічну протизапальну дію з імуномодулювальним впливом безклітинних біологічних засобів, а також розробка об'єктивних методів кількісної оцінки ефективності такої терапії.

Мета роботи – оцінити модуляцію протизапальної дії німесуліді та кеторолаку безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами (кріоекстрактом плаценти та кондиціонованим середовищем мезенхімальних стромальних клітин) в умовах експериментального ад'ювантного артриту у щурів шляхом кількісного аналізу змін об'єму суглобів за даними конусно-променевої комп'ютерної томографії.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на 42 самцях щурів з індукованим ад'ювантним артритом, яких рандомізували на 6 експериментальних груп. Лікування проводили з 14 по 28 добу експерименту. Кількісну оцінку змін суглобів здійснювали методом конусно-променевої комп'ютерної томографії на «0» (вихідні показники), 14-й та 28-й день експерименту з розрахунком умовного об'єму плесно-фалангового суглоба на основі лінійних морфометричних показників.

Результати. У щурів з ад'ювантним артритом без лікування об'єм суглоба до 28-ї доби збільшувався на 147,4% порівняно з вихідним рівнем, що свідчило про

прогресування запального процесу. Монотерапія німесулідом або кеторолаком забезпечувала зниження об'єму суглоба відповідно на 38,2% та 46,3% порівняно з нелікованими тваринами, однак показники залишалися значно вищими за інтактні значення. Комбіноване застосування німесулідом з кріоекстрактом плаценти привело до найбільш вираженого зменшення об'єму суглоба, який перевищував інтактний рівень лише на 10,8%. Поєднання кеторолаку з кондиціонованим середовищем мезенхімальних стовбурових клітин також забезпечувало істотне зниження запальних змін, з перевищенням інтактних значень на 14,9%. Обидві комбінації достовірно перевищували ефективність монотерапії.

Висновки. Комбіноване застосування нестероїдних протизапальних препаратів з безклітинними біологічними засобами є більш ефективним для зменшення суглобового запалення при експериментальному ад'ювантному артриті, ніж монотерапія. Конусно-променева комп'ютерна томографія з морфометричним аналізом дозволяє об'єктивно кількісно оцінювати динаміку запальних змін у суглобах.

Для цитування:

Студент В.О., Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Матвієнко М.С. Конусно-променева томографічна оцінка модуляції протизапальної дії німесулідом та кеторолаку безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами при експериментальному ревматоїдному артриті. *Каразінський імунологічний журнал*. 2025. Т. 8. № 2(16). С. 228–246. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2025-16-05>

Keywords:

rheumatoid arthritis, non-steroidal anti-inflammatory drugs, cell-free biological products, cryopreservation, placenta, mesenchymal stromal cells, conditioned medium, cone-beam computed tomography.

For correspondence:

Student Volodymyr Omelianovych
V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science
of Ukraine, Department of General
Surgery, Anesthesiology and Palliative
Medicine;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: student.volodymyr@gmail.com

© Student V.O., Hladkykh F.V.,
Liadova T.I., Matvieienko M.S., 2025

ABSTRACT

Background. Rheumatoid arthritis is a chronic systemic immune-inflammatory disease accompanied by progressive joint damage, bone tissue remodeling, and persistent functional impairment. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are widely used to control pain and inflammation; however, their action is mainly limited to mediator-dependent inflammatory pathways and does not affect the key immunopathogenetic mechanisms of the disease. Therefore, the development of combined therapeutic approaches that integrate pharmacological anti-inflammatory effects with the immunomodulatory potential of cell-free biological products, as well as the use of objective quantitative methods for assessing treatment efficacy, remains highly relevant.

Purpose – to evaluate the modulation of the anti-inflammatory effects of nimesulide and ketorolac by cell-free cryopreserved biological products, namely placental cryoextract and conditioned medium of mesenchymal stromal cells, in rats with experimental adjuvant-induced arthritis using quantitative analysis of joint volume changes based on cone-beam computed tomography.

Materials and Methods. The study was conducted on 42 male rats with induced adjuvant-induced arthritis, randomly allocated into 6 experimental groups. Treatment was administered from day 14 to day 28 of the experiment. Quantitative assessment of joint changes was performed using cone-beam computed tomography at baseline, day 14, and day 28, with calculation of the conditional volume of the metatarsophalangeal joint based on linear morphometric parameters.

Results. In rats with adjuvant-induced arthritis without treatment, joint volume increased by 147.4% by day 28 compared to baseline values, indicating progressive inflammatory development. Monotherapy with nimesulide or ketorolac reduced joint volume by 38.2% and 46.3%, respectively, compared to untreated animals; however, the values remained significantly higher than those observed in intact rats. Combined administration of nimesulide with placental cryoextract resulted in the most pronounced reduction in joint volume, exceeding intact levels by only 10.8%. The combination of ketorolac with conditioned medium of mesenchymal stromal cells also provided a significant reduction in inflammatory changes, with joint volume exceeding intact values by 14.9%. Both combined treatment regimens demonstrated significantly greater efficacy than monotherapy.

Conclusions. Combined administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs with cell-free biological products is more effective in reducing joint inflammation in experimental adjuvant-induced arthritis than monotherapy. Cone-beam computed tomography with morphometric analysis allows objective quantitative assessment of the dynamics of inflammatory changes in joints.

For citation:

Student VO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS. Cone-beam tomographic evaluation of the modulation of the anti-inflammatory effect of nimesulide and ketorolac by cell-free cryopreserved biological agents in experimental rheumatoid arthritis. *Karazin Journal of Immunology*. 2025;8(2(16)):228–246. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2025-16-05>

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АА – ад'ювантний артрит
БКБЗ – безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби
ЕПЛ – екстракт плаценти людини

ABBREVIATIONS

AA – adjuvant arthritis
CF-CBPs – cell-free cryopreserved biological products
HPE – human placental extract

КЕП – криоекстракт плаценти
КЕТ – кеторолак
КІА – колаген-індукований артрит
КПКТ – конусно-променева комп'ютерна томографія
КС-МСК – кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин
КТ – комп'ютерна томографія
МСК – мезенхімальні стовбурові клітини
НІМ – німесулід
НПЗЗ – нестероїдні протизапальні препарати
РА – ревматоїдний артрит
ЦОГ – циклооксигеназа

PCE – placental cryoextract
KET – ketorolac
CIA – collagen-induced arthritis
CBCT – cone-beam computed tomography
MSC-CM – mesenchymal stem cell-conditioned medium
CT – computed tomography
MSCs – mesenchymal stem cells
NIM – nimesulide
NSAIDs – nonsteroidal anti-inflammatory drugs
RA – rheumatoid arthritis
COX – cyclooxygenase

ВСТУП

INTRODUCTION

Ревматоїдний артрит (РА) – це хронічне системне імунізопальне захворювання, для якого характерні персистуюче синовіальне запалення, прогресуюче ураження кістково-хрящових структур та формування функціональної недостатності. Патогенез РА визначається складною взаємодією між вродженими та адаптивними ланками імунітету, а клінічно значущі структурні зміни в суглобі є прямим наслідком тривалої цитокін-опосередкованої та клітинно-опосередкованої активації імунної відповіді [1, 2, 3].

У центральному імунітопатогенетичному каскаді РА важливе місце посідає активація макрофагів, дендритних клітин, Т-лімфоцитів та синовіальних фібробластів із формуванням стабільної мережі прозапальних медіаторів. Зокрема, фактор некрозу пухлин- α (TNF- α), інтерлейкін-6 (IL-6) та інтерлейкін-17 (IL-17) беруть участь у підтриманні хронічного запалення, індукції матриксних металопротеїназ і посиленні деструктивних процесів у суглобі; при цьому TNF і IL-17 можуть діяти синергічно, потенціюючи продукцію патогенетично значущих молекул синовіальними фібробластами [4]. Важливим «мостом» між імунним запаленням і кістковою деструкцією є остеоімунологічні механізми: цитокін-індукована експресія ліганда активатора рецептора ядерного фактора каппа-В (*Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand* – RANKL) та активація остеокластогенезу сприяють ерозивним змінам і ремоделюванню кістки при РА [5].

Експериментальне моделювання ревматоїдно-подібного ураження суглобів часто здійснюють на моделі ад'ювантного артриту (AA), яка має виражений імунізалежний компонент і відтворює ключові риси хронічного артриту, включно з клітинною інфільтрацією, цитокіновою дисрегуляцією та прогресією суглобового запалення. Саме тому AA широко застосовують для вивчення імунологічних механізмів протизапальної терапії та порівняльної оцінки різних фармакологічних і біологічних підходів [6, 7].

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗЗ) залишаються одним із базових засобів контролю болю та запалення при артритах. Їх ключовий механізм дії пов'язаний з інгібуванням циклооксигенази (ЦОГ) і, як наслідок, зменшенням синтезу простагландинів та інших ейкозаноїдів, які беруть участь у вазодилатації, набряку, гіпералгезії й підтриманні запальної реакції. Німесулід (НІМ) описують як НПЗЗ із відносною/переважною селективністю щодо COX-2 та додатковими фармакологічними особливостями (зокрема, поза суто простагландиною ланкою), що може мати значення для тканинно-імунних взаємодій у вогнищі запалення [8]. Кеторолак (КЕТ) є НПЗЗ із потужною

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic immune-inflammatory disease characterized by persistent synovial inflammation, progressive damage to bone and cartilage structures, and the development of functional impairment. The pathogenesis of RA is determined by complex interactions between the innate and adaptive immune systems, and clinically significant structural changes in the joint are a direct consequence of prolonged cytokine-mediated and cell-mediated activation of the immune response [1, 2, 3].

In the central immunopathogenetic cascade of RA, activation of macrophages, dendritic cells, T lymphocytes, and synovial fibroblasts plays a key role, leading to the formation of a stable network of pro-inflammatory mediators. In particular, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-17 (IL-17) are involved in maintaining chronic inflammation, inducing matrix metalloproteinases, and enhancing destructive processes in the joint; TNF and IL-17 may act synergistically, potentiating the production of pathogenetically significant molecules by synovial fibroblasts [4]. An important «bridge» between immune inflammation and bone destruction is osteoimmunological mechanisms: cytokine-induced expression of the Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand (*Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand* – RANKL) and activation of osteoclastogenesis contribute to erosive changes and bone remodeling in RA [5].

Experimental modeling of rheumatoid-like joint damage is often performed using the adjuvant arthritis (AA) model, which has a pronounced immune-dependent component and reproduces key features of chronic arthritis, including cellular infiltration, cytokine dysregulation, and progression of joint inflammation. Therefore, AA is widely used to study immunological mechanisms of anti-inflammatory therapy and for comparative evaluation of various pharmacological and biological approaches [6, 7].

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) remain one of the basic means of controlling pain and inflammation in arthritis. Their key mechanism of action is associated with inhibition of cyclooxygenase (COX) and, consequently, a reduction in the synthesis of prostaglandins and other eicosanoids involved in vasodilation, edema, hyperalgesia, and maintenance of the inflammatory response. Nimesulide (NIM) is described as an NSAID with relative/preferential selectivity toward COX-2 and additional pharmacological features (in particular, beyond the purely prostaglandin pathway), which may be relevant to tissue-immune interactions at the site of inflammation [8]. Ketorolac (KET) is an NSAID with potent analgesic and anti-inflammatory

аналгетичною та протизапальною активністю, що реалізується через ЦОГ-опосередковані механізми; фармакологічні огляди підкреслюють його ефективність у контролі болю та запалення, але також наголошують на обмеженнях безпеки при тривалому застосуванні [9].

Водночас НПЗЗ переважно впливають на медіаторну (простагландинову) ланку запалення і не усувають фундаментальної імунної дизрегуляції, що лежить в основі РА. Це зумовлює інтерес до комбінованих стратегій, у яких протизапальна фармакотерапія доповнюється засобами, здатними модулювати імунну відповідь. Одним із перспективних напрямків розглядають безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби (БКБЗ), які містять комплекс біоактивних молекул (розчинні фактори та/або позаклітинні везикули), потенційно здатних впливати на цитокінетичну мережу та фенотипи імунних клітин без введення живих клітин [10, 11, 12].

Особливе місце серед БКБЗ займають мезенхімальні стовбурові клітини (МСК)-асоційований секретом: узагальнені дані вказують, що імуномодуляторні ефекти МСК значною мірою опосередковуються їхнім секреторним профілем і здатністю змінювати взаємодію між клітинами вродженого та адаптивного імунітету (включно з макрофагами та Т-клітинними субпопуляціями) [12, 13]. У цьому контексті кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) розглядають як безклітинний продукт, що може реалізувати частину імунорегуляторних властивостей МСК; сучасні огляди терапій на основі секретому МСК підкреслюють його потенціал для контролю запалення при імунозапальних захворюваннях, зокрема через вплив на цитокінетичний баланс і клітинні ефекторні механізми [13, 14, 15].

Іншим видом БКБЗ, який привертає увагу як джерело біоактивних регуляторних молекул, є кріоекстракт плаценти (КЕП). Огляди, присвячені плацентарним екстрактам, узагальнюють дані про їхні протизапальні властивості та потенційну здатність впливати на імунні відповіді, що робить такі засоби цікавими кандидатами для ад'ювантного використання на моделях хронічного запалення [16, 17].

Ключовою методичною задачею у дослідженнях імунозапальної терапії є вибір об'єктивних кількісних показників, які відображають вираженість локального запалення та його наслідків у суглобі. Сучасні методи променевої візуалізації дозволяють поєднати морфологічну оцінку з кількісним аналізом змін. Конусно-променева комп'ютерна томографія (КПКТ) є різновидом томографічної візуалізації з високою просторовою роздільною здатністю для кісткових структур та можливістю мультипланарних реконструкцій; у клінічних і прикладних роботах КПКТ демонструє діагностичну цінність для оцінки дегенеративно-запальних змін у дрібних суглобах і кісткових компонентах [18, 19]. Хоча КПКТ не є прямим «імунологічним» тестом, морфометричні показники (зокрема лінійні розміри та похідні інтегральні величини на кшталт умовного об'єму суглоба) можуть розглядатися як об'єктивні сурогатні маркери інтенсивності імунозапалення, оскільки набряк, інфільтрація та тканинна проліферація є наслідком цитокінетично-опосередкованих і клітинних механізмів. Додатково, дослідження на тваринних моделях запального артриту показують, що комп'ютерна томографія може застосовуватися для кількісного аналізу структурних змін і пов'язаних із запаленням феноменів у суглобі [20].

activity mediated through COX-dependent mechanisms; pharmacological reviews emphasize its effectiveness in controlling pain and inflammation, while also noting safety limitations with long-term use [9].

At the same time, NSAIDs mainly affect the mediator (prostaglandin) component of inflammation and do not eliminate the fundamental immune dysregulation underlying RA. This drives interest in combined strategies in which anti-inflammatory pharmacotherapy is supplemented with agents capable of modulating the immune response. One promising direction involves cell-free cryopreserved biological products (CF-CBPs) containing a complex of bioactive molecules (soluble factors and/or extracellular vesicles) potentially capable of influencing cytokine networks and immune cell phenotypes without the administration of living cells [10, 11, 12].

A special place among CF-CBPs is occupied by mesenchymal stem cell (MSC)-associated secretome: accumulated data indicate that the immunomodulatory effects of MSCs are largely mediated by their secretory profile and their ability to alter interactions between innate and adaptive immune cells (including macrophages and T-cell subpopulations) [12, 13]. In this context, mesenchymal stem cell-conditioned medium (MSC-CM) is considered a cell-free product capable of reproducing part of the immunoregulatory properties of MSCs; contemporary reviews of MSC secretome-based therapies emphasize its potential for controlling inflammation in immune-inflammatory diseases, particularly through effects on cytokine balance and cellular effector mechanisms [13, 14, 15].

Another type of CF-CBP that attracts attention as a source of bioactive regulatory molecules is placental cryoextract (PCE). Reviews devoted to placental extracts summarize data on their anti-inflammatory properties and potential ability to influence immune responses, making such agents interesting candidates for adjuvant use in models of chronic inflammation [16, 17].

A key methodological task in studies of immune-inflammatory therapy is the selection of objective quantitative indicators that reflect the severity of local inflammation and its consequences in the joint. Modern imaging methods allow morphological assessment to be combined with quantitative analysis of changes. Cone-beam computed tomography (CBCT) is a type of tomographic imaging with high spatial resolution for bone structures and the capability for multiplanar reconstructions; in clinical and applied studies, CBCT demonstrates diagnostic value for assessing degenerative-inflammatory changes in small joints and bone components [18, 19]. Although CBCT is not a direct «immunological» test, morphometric parameters (including linear dimensions and derived integral values such as conditional joint volume) can be considered objective surrogate markers of immune-inflammatory intensity, since edema, infiltration, and tissue proliferation result from cytokine-mediated and cellular mechanisms. In addition, studies in animal models of inflammatory arthritis show that computed tomography can be used for quantitative analysis of structural changes and inflammation-associated phenomena in the joint [20].

In summary, combining NSAIDs with CF-CBPs may potentially provide a «dual» impact on the inflammatory process: (1) pharmacological suppression of the COX-mediated mediator pathway and (2) immunological modulation of cytokine networks and cellular effectors

Узагальнюючи, поєднання НПЗЗ із БКБЗ потенційно може забезпечити «подвійний» вплив на запальний процес: (1) фармакологічне пригнічення ЦОГ-опосередкованої медіаторної ланки та (2) імунологічну модуляцію цитокінових мереж і клітинних ефektorів запалення. Об'єктивізація такого підходу потребує кількісних інструментів контролю суглобових змін у динаміці, і КПКТ у цьому плані є доцільним методом для стандартизованого вимірювання морфометричних параметрів і похідних інтегральних показників, які відображають тяжкість локального імунозапалення при АА як моделі РА [4, 13, 21].

Мета роботи – оцінити модуляцію протизапальної дії німесуліді та кеторолаку безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами (кріоекстрактом плаценти та кондиціонованим середовищем мезенхімальних стовбурових клітин) в умовах експериментального ад'ювантного артриту у щурів шляхом кількісного аналізу змін об'єму суглобів за даними конусно-променевої комп'ютерної томографії.

of inflammation. Objectifying such an approach requires quantitative tools for dynamic monitoring of joint changes, and CBCT in this regard is an appropriate method for standardized measurement of morphometric parameters and derived integral indices reflecting the severity of local immune inflammation in AA as a model of RA [4, 13, 21].

Objective – to evaluate the modulation of the anti-inflammatory effects of nimesulide and ketorolac by cell-free cryopreserved biological products (placental cryoextract and mesenchymal stem cell-conditioned medium) under conditions of experimental adjuvant arthritis in rats using quantitative analysis of joint volume changes based on cone-beam computed tomography data.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

Дослідження проведено на моделі АА у щурів, який відтворювали введенням повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ; *Thermo Fisher Scientific, США*) [22]. Ін'єкцію ПАФ виконували у субплантарну ділянку задньої лівої кінцівки, між II і III пальцями [23, 24].

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 у вигляді водно-полісорбатної суспензії на Tween-80 [25].

Кріоекстракт плаценти (КЕП) та КС-МСК отримували за стандартизованими біотехнологічними протоколами з дотриманням вимог асептики, біобезпеки та кріозбереження, що гарантувало збереження біологічної активності низькомолекулярних пептидів, цитокінів, факторів росту та інших функціонально значущих компонентів [26, 27, 28]. Стандартизований за вмістом білка КЕП (1,5 мг білка на 1 мл) вводили щурам в/м у дозі 2,5 мл/кг маси тіла [29, 30]. КС-МСК, стандартизований за вмістом галектину-1 (6,0 пг/мл) вводили щурам в/м у дозі 0,6 мл/кг маси тіла [31, 32, 33].

Експериментальні 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.

The study was conducted using an AA model in rats, which was induced by administration of complete Freund's adjuvant (CFA; *Thermo Fisher Scientific, USA*) [22]. CFA was injected into the subplantar region of the left hind limb, between the second and third digits [23, 24].

The day of CFA administration was considered the beginning of the experiment (day «0»). Treatment of AA was performed from day 14 to day 28. The investigated cell-free cryopreserved biological products (CF-CBPs) and NSAIDs were administered every 2 days (a total of 5 injections) – intramuscularly (i.m.) and intragastrically (i.g.), respectively. Nimesulide (NIM) and ketorolac (KET) were administered as an aqueous polysorbate suspension in Tween-80 [25].

Placental cryoextract (PCE) and MSC-conditioned medium (MSC-CM) were obtained using standardized biotechnological protocols in compliance with aseptic, biosafety, and cryopreservation requirements, which ensured preservation of the biological activity of low-molecular-weight peptides, cytokines, growth factors, and other functionally significant components [26, 27, 28]. Protein-standardized PCE (1.5 mg protein per 1 mL) was administered to rats i.m. at a dose of 2.5 mL/kg body weight [29, 30]. MSC-CM, standardized by galectin-1 content (6.0 pg/mL), was administered to rats i.m. at a dose of 0.6 mL/kg body weight [31, 32, 33].

The experimental studies were performed on 42 male rats (200–220 g), randomized into six groups (Table 1) with seven animals per group according to individual pain sensitivity, which had been previously determined using a thermal nociceptive stimulus.

Таблиця 1. Розподіл експериментальних тварин за групами та умовами моделювання і лікування АА (N = 42)
Table 1. Distribution of experimental animals by groups and conditions of adjuvant arthritis (AA) modeling and treatment (N = 42)

Група Group	n	Умови експерименту / Experimental conditions
I	7	інтактні щури, яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура [34]; / intact rats that on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment received intramuscular injections of 0.9% NaCl solution at a dose of 1.0 mL/kg body weight [34];
II	7	щури зі змодельованим АА без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг [34]; / rats with induced AA without treatment (control group), which on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment received intramuscular injections of 0.9% NaCl solution at a dose of 1.0 mL/kg [34];

Продовження таблиці 1

III	7	щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/шл вводили НІМ у дозі 10,0 мг/кг [35]; / rats with induced AA that on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment received intragastric administration of NIM at a dose of 10.0 mg/kg [35];
IV	7	щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту нарізно вводили: КЕП в/м у дозі 2,5 мл/кг [29] та через 60 хв – в/шл вводили НІМ у дозі 10,0 мг/кг [35]; / rats with induced AA that on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment received separately: PCE intramuscularly at a dose of 2.5 mL/kg [29], and after 60 min – intragastric administration of NIM at a dose of 10.0 mg/kg [35];
V	7	щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/шл вводили КЕТ у дозі 5,6 мг/кг [36]; / rats with induced AA that on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment received intragastric administration of KET at a dose of 5.6 mg/kg [36];
VI	7	щури зі змодельованим АА, яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [30] та через 60 хв – в/шл вводили КЕТ у дозі 5,6 мг/кг [36]; / rats with induced AA that on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment received MSC-CM intramuscularly at a dose of 0.6 mL/kg [30], and after 60 min – intragastric administration of KET at a dose of 5.6 mg/kg [36];

Конусно-променева комп'ютерна томографія.

На «0», 14 та 28 дні експерименту проводили дослідження протизапальної активності за даними КПКТ на базі «Центру медичної 3D діагностики», (м. Львів, Україна) за допомогою цифрового панорамного конусно-променевого томографа Point 3D Combi 500 (PointNix, Південна Корея), використовуючи площинний сенсор з ділянкою сканування 9×12 см та променевим навантаженням 30–100 мкЗв [21, 37].

Сканування проводили з напругою 52,0 kV та силою струму 6,0 mA, які були визначені нами емпірично, як оптимальні для дослідження задніх кінцівок щурів. Мультипланарну реконструкцію (Multi-Planar Reconstruction – MPR) кісткових структур високої роздільної здатності здійснювали за допомогою програмного забезпечення «RealScan – CD Viewer» [21, 38].

За допомогою програмного забезпечення «RealScan – CD Viewer» (PointNix, Південна Корея) проводили вимірювання ширини та висоти суглоба. Вимірювання досліджуваних показників проведено за уніфікованим алгоритмом: ширину суглоба визначали у фронтальній площині, з попереднім налаштуванням векторних ліній паралельно поздовжнім осям кісткових структур ділянки дослідження та збільшенням товщини відображення зрізу до 2 мм. Вимірювання висоти суглоба було проведено по його середній частині в сагітальній площині з попереднім налаштуванням сагітального вектора паралельно поздовжній осі проксимальної трубчастості кістки, з додатковим збільшенням товщини відображення зрізу до 2 мм (рис. 1).

Для інтегральної характеристики лінійних розмірів суглобів задніх кінцівок щурів нами була запропонована спеціальна формула для розрахунку об'єму суглоба. Такий підхід дозволяє узагальнено оцінити зміни та зробити кількісні висновки щодо ступеня ураження. Як умовну геометричну модель було обрано циліндр, оскільки саме ця фігура найбільшою мірою відображає просторову організацію дрібних суглобів і забезпечує відносно точне відтворення їх анатомічних параметрів (рис. 2).

За висоту циліндра приймали висоту суглоба. Радіус циліндра розраховували як половину ширини суглоба, яку вимірювали у фронтальній площині ($R = \frac{1}{2}$ ширини суглоба, мм). Об'єм розраховували за формулою $V = \pi R^2 h$, де V – об'єм суглоба (мм³), π – математична константа, яка відображає співвідношення довжини кола до його діаметра та становить 3,14; R – радіус кола в основі циліндра ($\frac{1}{2}$ ширини суглоба, мм) h – висота циліндра (висота суглоба у сагітальній площині, мм) [21].

Cone-beam computed tomography. On days 0, 14, and 28 of the experiment, the anti-inflammatory activity was assessed based on CBCT data at the Center for Medical 3D Diagnostics (Lviv, Ukraine) using a digital panoramic cone-beam tomograph Point 3D Combi 500 (PointNix, South Korea), employing a flat-panel sensor with a scanning field of 9 × 12 cm and a radiation dose of 30–100 μSv [21, 37].

Scanning was performed at a voltage of 52.0 kV and a current of 6.0 mA, which were empirically determined by us as optimal for the examination of rat hind limbs. Multiplanar reconstruction (Multi-Planar Reconstruction – MPR) of high-resolution bone structures was carried out using the «RealScan – CD Viewer» software [21, 38].

Using the «RealScan – CD Viewer» software (PointNix, South Korea), measurements of joint width and height were performed. Measurements of the studied parameters were conducted according to a unified algorithm: joint width was determined in the frontal plane, with preliminary adjustment of vector lines parallel to the longitudinal axes of the bone structures in the region of interest and with an increase in slice display thickness to 2 mm. Measurement of joint height was performed along its midline in the sagittal plane, with preliminary adjustment of the sagittal vector parallel to the longitudinal axis of the proximal long bone and with additional increase in slice display thickness to 2 mm (Fig. 1).

To obtain an integral characterization of the linear dimensions of the joints of the rat hind limbs, we proposed a special formula for calculating joint volume. This approach allows generalized assessment of changes and enables quantitative conclusions regarding the degree of joint involvement. A cylinder was chosen as the conditional geometric model, since this shape most closely reflects the spatial organization of small joints and provides a relatively accurate representation of their anatomical parameters (Fig. 2).

The height of the cylinder was taken as the joint height. The radius of the cylinder was calculated as half of the joint width, which was measured in the frontal plane ($R = \frac{1}{2}$ of the joint width, mm). The volume was calculated using the formula $V = \pi R^2 h$, where V is the joint volume (mm³), π is the mathematical constant representing the ratio of a circle's circumference to its diameter and equal to 3.14, R is the radius of the circle at the base of the cylinder ($\frac{1}{2}$ of the joint width, mm), and h is the height of the cylinder (joint height in the sagittal plane, mm) [21].

The effectiveness of anti-inflammatory therapy was evaluated by comparing the volumes of first metatarsophalangeal joint (*art. metatarsophalangea*



Рис. 1. Конусно-променева томограма стопи щура у вікні програми «RealScan – CD Viewer» [21]
Fig. 1. Cone-beam computed tomogram of the rat paw in the «RealScan – CD Viewer» software window [21]

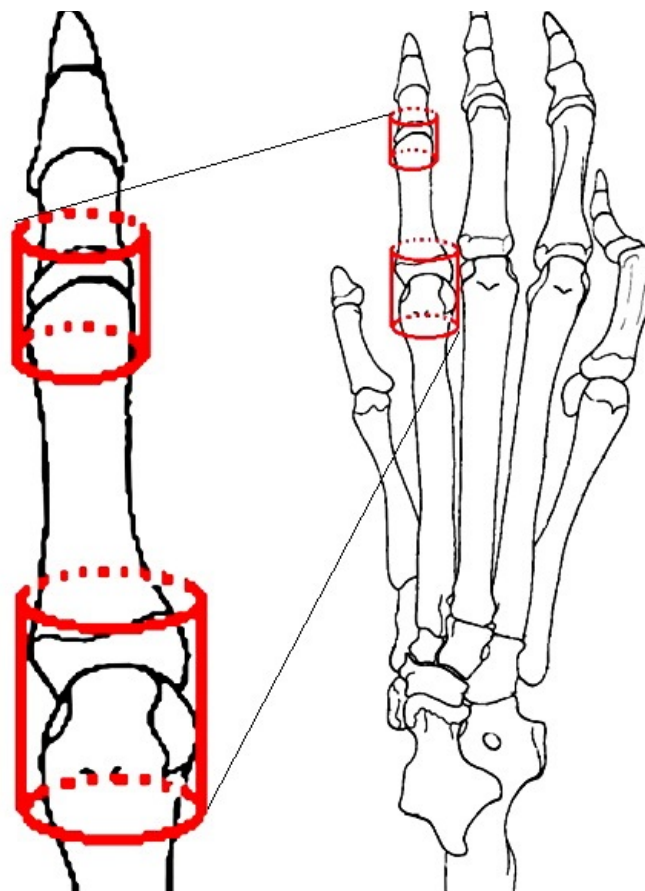


Рис. 2. Оцінка об'єму дрібних суглобів за допомогою геометричного моделювання на прикладі плесно-фалангового та проксимального міжфалангового суглобів другого пальця задньої правої кінцівки щура [21]
Fig. 2. Assessment of the volume of small joints using geometric modeling on the example of the metatarsophalangeal and proximal interphalangeal joints of the second toe of the right hind limb of the rat [21]

Оцінку ефективності протизапальної терапії проводили шляхом порівняння розрахованих за отриманими лінійними розмірами об'єму I плесно-фалангового суглоба (*art. metatarsophalangea prima*). Отримані розбіжності виражали у % по відношенню до показників інтактних тварин та тварин з АА без лікування.

МЕТОДИ СТАТИСТИЧНОЇ ОБРОБКИ

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили із застосуванням програмного пакета «Microsoft Office Excel 2010», що забезпечувало первинну обробку даних, розрахунок основних параметрів варіаційної статистики та побудову графіків для візуалізації результатів. Характер розподілу вибірок оцінювали за допомогою *W*-критерію Шапіро–Вілкі (*Shapiro–Wilk test*, $n < 50$), який вважається найбільш чутливим для невеликих вибірок та дозволяє визначити 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 Стьюдента, який дає змогу оцінити середні значення та їх відмінності з урахуванням стандартної похибки. Для аналізу повторних вимірювань усередині однієї групи використовували *T*-критерій Вілкоксона (*Wilcoxon T test*), який є методом для парних непараметричних даних і відображає динаміку змін показників у часі. Рівень статистичної вірогідності результатів визначали за загальноприйнятими значеннями: $0,05 < p < 0,10$ (тенденція до значущості), $p < 0,05$, $p < 0,01$ (статистично значуще), $p < 0,005$ (високий рівень значущості) та $p < 0,001$ (надзвичайно високий рівень достовірності). Результати з нормальним розподілом наводили у вигляді $M \pm m$ (середнє значення \pm стандартна похибка середнього; $M \pm SE$) із зазначенням 95% довірчого інтервалу (ДІ) [39, 40].

prima) calculated from the obtained linear dimensions. The observed differences were expressed as percentages relative to the values of intact animals and animals with untreated AA.

METHODS OF STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis of the obtained results was performed using the «Microsoft Office Excel 2010» software package, which provided primary data processing, calculation of the main parameters of variation statistics, and construction of graphs for result visualization. The distribution pattern of the samples was assessed using the (*Shapiro–Wilk W test* $n < 50$), which is considered the most sensitive for small sample sizes and allows determination of conformity of empirical data to a normal distribution. Homogeneity of variances was tested using Levene's test.

In cases where normal distribution was confirmed, differences between independent samples were determined using Student's *t*-test, which allows evaluation of mean values and their differences taking into account the standard error. For analysis of repeated measurements within the same group, the (*Wilcoxon T test*) was used, which is a method for paired nonparametric data and reflects the dynamics of changes in indicators over time.

The level of statistical significance was determined according to generally accepted values: $0.05 < p < 0.10$ (trend toward significance), $p < 0.05$, $p < 0.01$ (statistically significant), $p < 0.005$ (high level of significance), and $p < 0.001$ (extremely high level of significance). Results with a normal distribution were presented as $M \pm m$ (mean \pm standard error of the mean; $M \pm SE$) with indication of the 95% confidence interval (CI) [39, 40].

РЕЗУЛЬТАТИ

Встановлено, що в інтактних щурів об'єм I плесно-фалангового суглоба залишався стабільним протягом усього періоду дослідження. На вихідному етапі («0» день) значення становило $5,3 \pm 0,10 \text{ мм}^3$ з 95% ДІ у межах $5,1\text{--}5,5 \text{ мм}^3$, на 14 день – $5,4 \pm 0,09 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $5,2\text{--}5,6 \text{ мм}^3$), а на 28-й день – $5,5 \pm 0,08 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $5,3\text{--}5,6 \text{ мм}^3$). Динамічних зсувів не спостерігалось, а зареєстровані відмінності не мали статистичної значущості. Отримані результати підтверджують фізіологічну сталість параметрів у тварин без індукції АА та забезпечують базис для порівняння з іншими групами (табл. 2).

Кардинально інша ситуація спостерігалась у контрольній групі щурів з АА без лікування. Вже на 14 день об'єм суглоба зріс до $10,1 \pm 0,21 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $9,6\text{--}10,5 \text{ мм}^3$), що означало приріст на 91,8% відносно початкового рівня ($p < 0,01$). До 28 дня патологічні зміни ще більше посилюлися – показник досяг $13,0 \pm 0,18 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $12,6\text{--}13,3 \text{ мм}^3$), перевищивши вихідні значення на 147,4% ($p < 0,01$) та значення 14 дня на 29,0% ($p < 0,01$). Таким чином, у щурів з АА без терапевтичної корекції відбулося стрімке прогресування запальної реакції, що підтверджує адекватність використаної моделі для відтворення ревматоїдноподібних ушкоджень суглобів (рис. 3).

RESULTS

It was established that in intact rats, the volume of the first metatarsophalangeal joint remained stable throughout the entire study period. At the baseline stage (day «0»), the value was $5.3 \pm 0.10 \text{ mm}^3$ with a 95% CI of $5.1\text{--}5.5 \text{ mm}^3$; on day 14 it was $5.4 \pm 0.09 \text{ mm}^3$ (95% CI: $5.2\text{--}5.6 \text{ mm}^3$), and on day 28 it was $5.5 \pm 0.08 \text{ mm}^3$ (95% CI: $5.3\text{--}5.6 \text{ mm}^3$). No dynamic shifts were observed, and the recorded differences were not statistically significant. The obtained results confirm the physiological stability of the parameters in animals without AA induction and provide a baseline for comparison with other groups (Table 2).

A fundamentally different situation was observed in the control group of rats with untreated AA. As early as day 14, the joint volume increased to $10.1 \pm 0.21 \text{ mm}^3$ (95% CI: $9.6\text{--}10.5 \text{ mm}^3$), which represented an increase of 91.8% relative to the baseline level ($p < 0.01$). By day 28, pathological changes became even more pronounced – the value reached $13.0 \pm 0.18 \text{ mm}^3$ (95% CI: $12.6\text{--}13.3 \text{ mm}^3$), exceeding baseline values by 147.4% ($p < 0.01$) and the day 14 values by 29.0% ($p < 0.01$). Thus, in rats with AA without therapeutic correction, a rapid progression of the inflammatory response was observed, confirming the adequacy of the applied model for reproducing rheumatoid-like joint damage (Fig. 3).

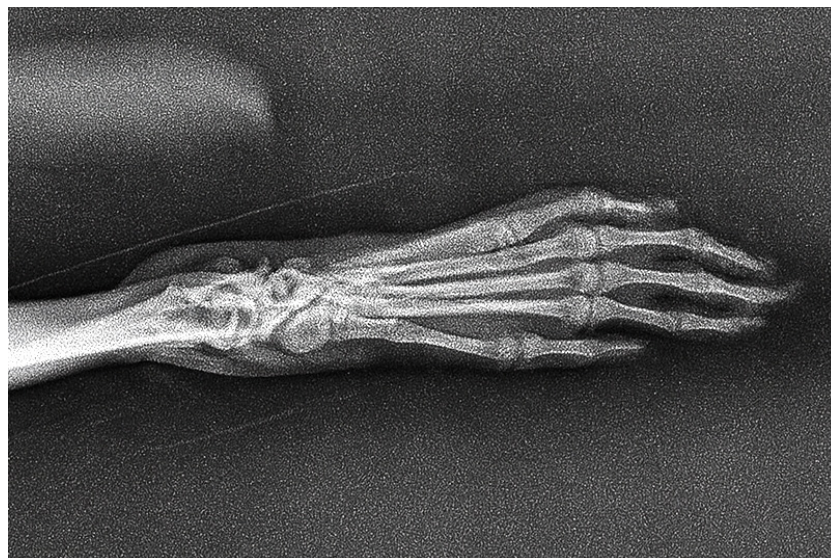


Рис. 3. Конусно-променева комп'ютерна томограма лівої задньої кінцівки щура з АА на 28-й день експерименту, фронтальна проєкція
Fig. 3. Cone-beam computed tomogram of the left hind limb of a rat with adjuvant arthritis on day 28 of the experiment, frontal projection

У тварин, яким вводили НІМ, на 14-й день зафіксовано об'єм суглоба $10,37 \pm 0,11 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $10,2\text{--}10,6 \text{ мм}^3$), що було на 93,1% вище від вихідного рівня ($p < 0,01$). Цей показник практично не відрізнявся від контрольної групи, що вказує на недостатню ефективність НІМ у ранній період розвитку АА. Проте на 28-й день динаміка змінилася: значення знизилася до $8,0 \pm 0,26 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $7,5\text{--}8,5 \text{ мм}^3$), що перевищувало вихідний рівень на 49,2% ($p < 0,01$), але було достовірно менше на 38,2% від контрольних значень ($p < 0,001$). Отже, протизапальна активність НІМ проявилася із затримкою, стаючи очевидною на пізніх етапах перебігу АА.

Додавання КЕП до НІМ помітно змінювало характер відповіді. На 14-й день об'єм суглоба склав $10,4 \pm 0,16 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $10,0\text{--}10,7 \text{ мм}^3$), що відповідало приросту на 94,9% відносно вихідного рівня ($p < 0,01$), але достовірної різниці порівняно з групою НІМ не відзначалося (див. табл. 2).

На 28-й день, однак, результати виявилися принципово іншими: об'єм суглоба знизився до $5,9 \pm 0,16 \text{ мм}^3$ (95% ДІ: $5,6\text{--}6,2 \text{ мм}^3$). Це значення лише на 10,8% перевищувало вихідний рівень ($p < 0,05$) і було на 54,6%

In animals treated with NIM, a joint volume of $10.37 \pm 0.11 \text{ mm}^3$ (95% CI: $10.2\text{--}10.6 \text{ mm}^3$) was recorded on day 14, which was 93.1% higher than the baseline level ($p < 0.01$). This value did not practically differ from that of the control group, indicating insufficient efficacy of NIM during the early stage of AA development. However, by day 28 the dynamics changed: the value decreased to $8.0 \pm 0.26 \text{ mm}^3$ (95% CI: $7.5\text{--}8.5 \text{ mm}^3$), which exceeded the baseline level by 49.2% ($p < 0.01$), but was significantly lower by 38.2% compared with the control values ($p < 0.001$). Thus, the anti-inflammatory activity of NIM manifested with a delay, becoming evident at later stages of AA progression.

The addition of PCE to NIM markedly altered the response pattern. On day 14, the joint volume was $10.4 \pm 0.16 \text{ mm}^3$ (95% CI: $10.0\text{--}10.7 \text{ mm}^3$), corresponding to an increase of 94.9% relative to baseline ($p < 0.01$); however, no statistically significant difference was observed compared with the NIM group (see Table 2).

On day 28, however, the results proved to be fundamentally different: the joint volume decreased to $5.9 \pm 0.16 \text{ mm}^3$ (95% CI: $5.6\text{--}6.2 \text{ mm}^3$). This value exceeded the baseline level by only 10.8% ($p < 0.05$) and

Таблиця 2. Вплив НІМ та КЕТ у поєднанні з КЕП та КС-МСК на об'єм I плесно-фалангового суглоба лівої задньої кінцівки у щурів з АА в динаміці, мм^3 ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n = 42$)
Table 2. Effect of nimesulide (NIM) and ketorolac (KET) in combination with placental cryoextract (PCE) and conditioned medium of mesenchymal stromal cells (CM-MSCs) on the volume of the first metatarsophalangeal joint of the left hind limb in rats with adjuvant arthritis (AA) over time, mm^3 ($M \pm m$ (95% CI) or Me [LQ; UQ], $n = 42$)

Строк / Time point	I (1) група group	II (2) група group	III (3) група group	IV (4) група group	V (5) група group	VI (6) група group	Рівень статистичної вірогідності [%] / Level of statistical significance [%]							
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АА без лікування) Control (AA without treatment)	АА + НІМ АА + NIM	АА + НІМ + КЕП АА + NIM + PCE	АА + КЕТ АА + KET	АА + КЕТ + КС-МСК АА + KET + MSC-CM	P_{2-1}	P_{3-2}	P_{4-2}	P_{5-2}	P_{6-2}	P_{4-3}	P_{5-3}	P_{6-4}
«0» день «0» Day	$5,3 \pm 0,10$ (95% ДІ: 95% CI: 5,1–5,5)	$5,2 \pm 0,09$ (95% ДІ: 95% CI: 5,1–5,4)	$5,4 \pm 0,07$ (95% ДІ: 95% CI: 5,2–5,5)	$5,3 \pm 0,09$ (95% ДІ: 95% CI: 5,1–5,5)	$5,2 \pm 0,08$ (95% ДІ: 95% CI: 5,0–5,4)	$5,3 \pm 0,07$ (95% ДІ: 95% CI: 5,1–5,4)	0,9 [0,3%]	0,3 [2,5%]	0,6 [1,4%]	0,7 [0,8%]	0,8 [0,5%]	0,6 [1,1%]	0,1 [3,8%]	0,7 [0,8%]

Продовження таблиці 2

14 день 14 Day	5,4±0,09 (95% ДІ: 95% СІ: 5,2–5,6) $p_{d0/d0} = 0,14$ [2,2%] $_{d0/d0}$	10,1±0,21 (95% ДІ: 95% СІ: 9,6–10,5) $p_{d0/d0} = 0,009$ [91,8%] $_{d0/d0}$	10,37±0,11 (95% ДІ: 95% СІ: 10,2–10,6) $p_{d0/d0} = 0,009$ [93,1%] $_{d0/d0}$	10,4±0,16 (95% ДІ: 95% СІ: 10,0–10,7) $p_{d0/d0} = 0,009$ [94,9%] $_{d0/d0}$	10,2±0,10 (95% ДІ: 95% СІ: 10,0–10,4) $p_{d0/d0} = 0,009$ [96,7%] $_{d0/d0}$	10,1±0,13 (95% ДІ: 95% СІ: 9,8–10,3) $p_{d0/d0} = 0,009$ [90,8%] $_{d0/d0}$	< 0,001 [87,2%]	0,2 [3,1%]	0,3 [3,0%]	0,5 [1,7%]	1,0 [-]	0,9 [0,1%]	0,4 [1,4%]	0,2 [2,9%]
28 день 28 Day	5,5±0,08 (95% ДІ: 95% СІ: 5,3–5,6) $p_{d0/d0} = 0,08$ [4,3%] $_{d0/d0}$ $p_{d14} = 0,17$ [2,1%] $_{d14/d14}$	13,0±0,18 (95% ДІ: 95% СІ: 12,6–13,3) $p_{d0/d0} = 0,009$ [147,4%] $_{d0/d0}$ $p_{d14} = 0,009$ [29,0%] $_{d14/d14}$	8,0±0,26 (95% ДІ: 95% СІ: 7,5–8,5) $p_{d0/d0} = 0,009$ [49,2%] $_{d0/d0}$ $p_{d14} = 0,009$ [22,7%] $_{d14/d14}$	5,9±0,16 (95% ДІ: 95% СІ: 5,6–6,2) $p_{d0/d0} = 0,014$ [10,8%] $_{d0/d0}$ $p_{d14} = 0,009$ [43,2%] $_{d14/d14}$	7,0±0,14 (95% ДІ: 95% СІ: 6,7–7,3) $p_{d0/d0} = 0,009$ [34,1%] $_{d0/d0}$ $p_{d14} = 0,009$ [31,8%] $_{d14/d14}$	6,1±0,18 (95% ДІ: 95% СІ: 5,7–6,4) $p_{d0/d0} = 0,009$ [14,9%] $_{d0/d0}$ $p_{d14} = 0,009$ [39,8%] $_{d14/d14}$	< 0,001 [136,5%]	< 0,001 [38,2%]	< 0,001 [54,6%]	< 0,001 [46,3%]	< 0,001 [53,3%]	< 0,001 [26,6%]	0,004 [13,0%]	0,5 [2,9%]

Примітки / Notes:

p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
 [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
 Індексами _{1,2,3} вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.
 p_1 – level of statistical significance of differences between indicators;
 [%] – values of differences between indicators expressed as percentages;
 Indices 1, 2, 3 indicate the number of the group whose indicators were used for comparison.

нижчим від контрольної групи ($p < 0,001$). Водночас об'єм суглоба виявився на 26,6% нижчим від групи НІМ ($p = 0,004$). Така динаміка свідчить про чіткий синергійний ефект поєднання НІМ з КЕП, що суттєво посилює протизапальну дію НІМ і знижує тяжкість артритичних змін у віддалені терміни експерименту.

Застосування КЕТ також характеризувалося певними особливостями. На 14-й день показник досяг $10,2 \pm 0,10$ мм³ (95% ДІ: 10,0–10,4 мм³), що відповідало приросту на 96,7% від вихідного рівня ($p < 0,01$). Це значення не відрізнялося від контрольної групи, що свідчить про обмежений ефект монотерапії КЕТ у ранній фазі АА. Проте, на 28-й день результати були більш виразними: об'єм суглоба становив $7,0 \pm 0,14$ мм³ (95% ДІ: 6,7–7,3 мм³), що перевищувало вихідний рівень на 34,1% ($p < 0,01$), але було достовірно нижчим на 46,3% від контрольної групи ($p < 0,001$). Це демонструє, що КЕТ забезпечує протизапальну дію з відстроченим ефектом, однак вона поступалася комбінованому використанню НІМ та КЕП.

Найбільш переконливі результати отримано у групі щурів з АА, яким вводили КЕТ у поєднанні з КС-МСК. На 14-й день об'єм суглоба становив $10,1 \pm 0,13$ мм³ (95% ДІ: 9,8–10,3 мм³), що відповідало приросту на 90,8% від вихідного рівня ($p < 0,01$), тобто був подібним до контрольних значень. Водночас на 28-й день об'єм суглоба достовірно зменшився до $6,1 \pm 0,18$ мм³ (95% ДІ: 5,7–6,4 мм³), що лише на 14,9% перевищувало вихідний рівень ($p < 0,01$). Це було на 53,3% нижчим від контрольних показників ($p < 0,001$) і на 13,0% нижчим від групи КЕТ ($p = 0,004$). Таким чином, додавання КС-МСК до КЕТ сприяло значно більш вираженому зниженню запальної відповіді, ніж застосування КЕТ як монотерапії.

Аналіз міжгрупових відмінностей на 28-й день дозволяє чітко простежити ієрархію ефективності досліджуваних БКБЗ. Найбільш несприятлива картина спостерігалась у контрольній групі, де зберігалось різке прогресування запалення. Використання НІМ та КЕТ окремо приводило до часткового зниження об'єму суглоба, проте результати залишалися далекими від норми. Лише комбінації НІМ з КЕП та КЕТ з КС-МСК забезпечували істотне зменшення

was 54.6% lower than that of the control group ($p < 0.001$). At the same time, the joint volume was 26.6% lower than in the NIM group ($p = 0.004$). This dynamic indicates a clear synergistic effect of the combination of NIM with PCE, which significantly enhances the anti-inflammatory action of NIM and reduces the severity of arthritic changes at later stages of the experiment.

The use of KET was also characterized by certain specific features. On day 14, the indicator reached 10.2 ± 0.10 mm³ (95% CI: 10.0–10.4 mm³), corresponding to an increase of 96.7% relative to baseline ($p < 0.01$). This value did not differ from that of the control group, indicating a limited effect of KET monotherapy in the early phase of AA. However, by day 28 the results were more pronounced: the joint volume was 7.0 ± 0.14 mm³ (95% CI: 6.7–7.3 mm³), which exceeded the baseline level by 34.1% ($p < 0.01$), but was 46.3% lower than that of the control group ($p < 0.001$). This demonstrates that KET provides an anti-inflammatory effect with a delayed onset, although it was inferior to the combined use of NIM and PCE.

The most convincing results were obtained in the group of rats with AA treated with KET in combination with MSC-CM. On day 14, the joint volume was 10.1 ± 0.13 mm³ (95% CI: 9.8–10.3 mm³), corresponding to an increase of 90.8% relative to baseline ($p < 0.01$), i.e., comparable to control values. At the same time, on day 28 the joint volume significantly decreased to 6.1 ± 0.18 mm³ (95% CI: 5.7–6.4 mm³), which exceeded the baseline level by only 14.9% ($p < 0.01$). This value was 53.3% lower than the control values ($p < 0.001$) and 13.0% lower than in the KET group ($p = 0.004$). Thus, the addition of MSC-CM to KET resulted in a markedly greater reduction of the inflammatory response than the use of KET as monotherapy.

Analysis of intergroup differences on day 28 allows a clear hierarchy of effectiveness of the studied cell-free cryopreserved biological products (CF-CBPs) to be identified. The most unfavorable pattern was observed in the control group, where marked progression of inflammation persisted. The use of NIM and KET separately led to a partial reduction in joint volume; however, the results remained far from normal. Only the combinations of NIM with PCE and KET with MSC-CM provided a substantial reduction in the

вираженості артритичних змін. При цьому поєднання НІМ з КЕП дозволяло знизити об'єм суглоба практично до інтактного рівня (лише на 10,8% вище вихідного), тоді як КЕТ з КС-МСК також демонстрував виразний ефект, хоча і дещо слабший.

Отримані результати вказують на важливе патогенетичне значення БКБЗ у модифікації перебігу АА. Їх дія не обмежувалася простим додатковим ефектом, а проявляла ознаки вираженого потенціювання проти-запальної активності НПЗЗ. Це особливо важливо у контексті хронічних моделей артриту, де тривале застосування традиційних НПЗЗ обмежене токсичністю і не завжди дає змогу досягти адекватного контролю запального процесу. Використання БКБЗ як ад'ювантів відкриває перспективи не тільки підвищення ефективності терапії, але й потенційного зниження дозових навантажень на організм.

Додатково варто підкреслити, що різні варіанти комбінацій продемонстрували дещо відмінні профілі ефективності. Для НІМ більш виражений ефект спостерігався при додаванні КЕП, тоді як для КЕТ – при поєднанні з КС-МСК. Це може відображати специфіку механізмів їх взаємодії: КЕП потенційно впливає на регуляцію місцевих медіаторів запалення, тоді як КС-МСК, ймовірно, модулює клітинні компоненти імунної відповіді, що зумовлює триваліший і стабільніший ефект у пізній фазі.

Таким чином, результати експерименту підтверджують, що поєднання НПЗЗ з БКБЗ є раціональним підходом до контролю артритичних змін. В умовах моделі АА застосування НІМ з КЕП та КЕТ з КС-МСК значно перевищувало ефективність монотерапії і забезпечувало істотне зниження вираженості набряку суглоба, що підтверджується даними КПКТ. Встановлені закономірності відкривають перспективи для створення комбінованих терапевтичних стратегій, які поєднують протизапальний потенціал НПЗЗ з біологічними властивостями БКБЗ, що в майбутньому може мати вагоме практичне значення для лікування патологій запального ґенезу.

ОБГОВОРЕННЯ

У представленому дослідженні на моделі АА у щурів продемонстровано, що НІМ або КЕТ забезпечує статистично значуще зменшення розрахованого за даними КПКТ об'єму І плесно-фалангового суглоба на 28-му добу порівняно з нелікованою групою АА. Водночас найбільш виражене наближення морфометричного показника до інтактного рівня досягалося лише при комбінованому застосуванні НПЗЗ із БКБЗ: НІМ + КЕП та КЕТ + КС-МСК. Такий характер відповіді узгоджується з сучасними уявленнями про те, що НПЗЗ переважно пригнічують простагландин-залежну ланку запалення через інгібування ЦОГ, тоді як БКБЗ можуть впливати на «вищі» рівні імунопатогенезу (цитокінові мережі, клітинні фенотипи, осі Th17/Treg, NF-κB-сигналінг тощо), потенціюючи та пролонгуючи протизапальний ефект.

Отриманий нами синергічний ефект комбінацій НПЗЗ з БКБЗ концептуально відповідає даним сучасних доклінічних робіт, у яких безклітинні продукти МСК (насамперед позаклітинні везикули/екзосоми) суттєво послаблюють прояви експериментального артриту. Так, у моделі колаген-індукованого артриту

severity of arthritic changes. In particular, the combination of NIM with PCE reduced the joint volume almost to the intact level (only 10.8% above baseline), whereas KET with MSC-CM also demonstrated a pronounced effect, although somewhat weaker.

The obtained results indicate an important pathogenetic role of CF-CBPs in modifying the course of AA. Their action was not limited to a simple additive effect but demonstrated features of pronounced potentiation of the anti-inflammatory activity of NSAIDs. This is especially important in the context of chronic arthritis models, where long-term use of conventional NSAIDs is limited by toxicity and does not always allow adequate control of the inflammatory process. The use of CF-CBPs as adjuvants opens prospects not only for increasing therapeutic efficacy but also for potentially reducing dose-related systemic burden.

Additionally, it should be emphasized that different combination variants demonstrated somewhat distinct efficacy profiles. For NIM, a more pronounced effect was observed when combined with PCE, whereas for KET, greater efficacy was achieved when combined with MSC-CM. This may reflect differences in the mechanisms of interaction: PCE may preferentially affect regulation of local inflammatory mediators, whereas MSC-CM likely modulates cellular components of the immune response, resulting in a more sustained and stable effect in the late phase.

Thus, the experimental results confirm that the combination of NSAIDs with CF-CBPs is a rational approach to controlling arthritic changes. Under conditions of the AA model, the use of NIM with PCE and KET with MSC-CM significantly exceeded the effectiveness of monotherapy and provided a substantial reduction in joint swelling severity, as confirmed by CBCT data. The identified patterns open prospects for the development of combined therapeutic strategies that integrate the anti-inflammatory potential of NSAIDs with the biological properties of CF-CBPs, which may have considerable practical significance for the treatment of inflammatory pathologies in the future.

DISCUSSION

In the present study using a rat AA model, it was demonstrated that NIM or KET provides a statistically significant reduction in the CBCT-derived volume of the first metatarsophalangeal joint on day 28 compared with the untreated AA group. At the same time, the most pronounced approximation of the morphometric parameter to the intact level was achieved only with the combined use of NSAIDs and CF-CBPs, namely NIM + PCE and KET + MSC-CM. This response pattern is consistent with current concepts that NSAIDs predominantly suppress the prostaglandin-dependent inflammatory pathway via COX inhibition, whereas CF-CBPs may act on «higher-level» components of immunopathogenesis (cytokine networks, cellular phenotypes, Th17/Treg axes, NF-κB signaling, etc.), thereby potentiating and prolonging the anti-inflammatory effect.

The synergistic effect of NSAID + CF-CBP combinations observed in our study conceptually corresponds to data from contemporary preclinical studies in which cell-free MSC-derived products (primarily extracellular vesicles/exosomes) markedly attenuate manifestations of experimental arthritis. Thus, in a collagen-induced

(KIA) введення екзосом МСК, збагачених miR-320a, асоціювалося зі зниженням активності/інвазивності фібробластоподібних синовіоцитів та зменшенням тяжкості артриту і кісткового ушкодження *in vivo* [41]. У близькій за змістом роботі було показано, що модифікація екзосом МСК мікроРНК-146a посилює імуномодулювальний ефект, зокрема впливаючи на показники Трег у контексті KIA [42]. Ці дані підкріплюють наш висновок, що додавання КС-МСК (як носія секретому/розчинних факторів і потенційних везикулярних компонентів) може «перемикати» запалення в напрямку менш агресивного імунного профілю, що клінічно на моделі відображається меншим набряком/зміною розмірів суглоба.

Особливо показовими є роботи, де МСК-екзосоми впливають на баланс Th17/Tрег і NF-κB-залежні шляхи – ключові осі патогенезу РА. Зокрема, у дослідженні із застосуванням екзосом ясенних МСК у KIA автори продемонстрували зниження клінічних показників артриту та товщини лапи, поліпшення гістологічної картини, зменшення кісткової ерозії за даними мікро-КТ, а також зрушення цитокинового профілю (зокрема зниження прозапальних медіаторів) з асоційованою модуляцією NF-κB-сигналіну [43]. Це прямо резонує з нашими даними: КЕТ + КС-МСК на 28-му добу забезпечував більший антинабряковий/антиремоделювальний ефект, ніж КЕТ як монотерапія. Додатково, у роботі з екзосомами з пуповинних МСК у KIA показано зменшення набряку лап, зниження прозапальних цитокинів і зменшення синовіальної гіперплазії, а також відновлення імунного балансу Th17/Tрег зі зниженням IL-17 і підвищенням TGF-β та IL-10 [44]. Наявність подібних ефектів у різних джерел МСК-екзосом підвищує правдоподібність того, що КС-МСК у нашій роботі діє через споріднені імунорегуляторні механізми, які проявляються на рівні інтегрального морфометричного показника суглоба.

Водночас необхідно підкреслити: ми оцінювали не класичний «клінічний» індекс артриту (артрит-шкали, товщина лапи) і не біохімічні маркери, а КПКТ-морфометрію із розрахунком умовного об'єму суглоба. Доказовість такого підходу підтримується тим, що саме КТ-технології (передусім мікро-КТ) у сучасних доклінічних РА-моделях широко використовують як об'єктивний інструмент кількісної оцінки кісткових і суглобових змін. Наприклад, у KIA-моделі мікро-КТ застосовували для визначення змін кісткового об'єму, мінеральної щільності та ознак ерозії/порозності; ці показники корелювали із запальним статусом і рівнями прозапальних цитокинів [45]. Хоча КПКТ відрізняється від мікро-КТ технічними характеристиками, логіка використання томографічної морфометрії як об'єктивного «сурогатного» маркера тяжкості локального імунозапалення є методично узгодженою з літературними підходами: набряк/гіперплазія/інфільтрація та структурні зміни в суглобі в підсумку відбиваються в вимірюваних розмірах і похідних інтегральних показниках.

Щодо НІМ, наші результати узгоджуються з концепцією, що НІМ має «ширший» фармакологічний профіль, ніж суто інгібіція ЦОГ-2, включно з ефектами на імунні й неімунні клітини та медіатори, що може реалізуватися у часі не миттєво. В роботі [8] підкреслено відносно ЦОГ-2-селективність НІМ та наявність додаткових механізмів протизапальної дії поза простагландиною ланкою. Водночас обмеження НПЗЗ при хронічному запаленні добре відомі: вони не адресують

arthritis (CIA) model, administration of MSC exosomes enriched with miR-320a was associated with reduced activity/invasiveness of fibroblast-like synoviocytes and with decreased severity of arthritis and bone damage *in vivo* [41]. In a closely related study, modification of MSC exosomes with microRNA-146a was shown to enhance their immunomodulatory effect, particularly by influencing Treg parameters in the CIA context [42]. These data support our conclusion that the addition of MSC-CM (as a carrier of secretome/soluble factors and potential vesicular components) may «shift» inflammation toward a less aggressive immune profile, which in the model is reflected by reduced swelling/size changes of the joint.

Particularly illustrative are studies demonstrating that MSC exosomes affect the Th17/Tрег balance and NF-κB-dependent pathways, which are key axes in RA pathogenesis. Specifically, in a study using gingival MSC-derived exosomes in CIA, the authors demonstrated reductions in clinical arthritis scores and paw thickness, improvement of histological findings, decreased bone erosion according to micro-CT, and shifts in the cytokine profile (notably reduced pro-inflammatory mediators) with associated modulation of NF-κB signaling [43]. This directly resonates with our findings: KET + MSC-CM on day 28 provided a greater anti-edematous/anti-remodeling effect than KET monotherapy. In addition, a study using umbilical cord MSC-derived exosomes in CIA demonstrated reduced paw swelling, decreased pro-inflammatory cytokines, reduced synovial hyperplasia, and restoration of the Th17/Tрег immune balance with decreased IL-17 and increased TGF-β and IL-10 [44]. The presence of similar effects across different MSC-exosome sources increases the plausibility that MSC-CM in our study acts via related immunoregulatory mechanisms manifested at the level of the integrated morphometric joint parameter.

At the same time, it should be emphasized that we did not assess a classic «clinical» arthritis index (arthritis scores, paw thickness) or biochemical markers, but rather CBCT-based morphometry with calculation of conditional joint volume. The validity of this approach is supported by the fact that CT technologies (primarily micro-CT) are widely used in modern preclinical RA models as objective tools for quantitative assessment of bone and joint changes. For example, in the CIA model, micro-CT has been used to determine changes in bone volume, mineral density, and signs of erosion/porosity; these parameters correlated with inflammatory status and levels of pro-inflammatory cytokines [45]. Although CBCT differs from micro-CT in technical characteristics, the logic of using tomographic morphometry as an objective surrogate marker of local immune-inflammatory severity is methodologically consistent with literature approaches: edema, hyperplasia, infiltration, and structural joint changes are ultimately reflected in measurable dimensions and derived integral parameters.

With regard to NIM, our results are consistent with the concept that NIM has a broader pharmacological profile than pure COX-2 inhibition, including effects on immune and non-immune cells and mediators, which may not be immediate in their manifestation. Study [8] emphasizes the relative COX-2 selectivity of NIM and the presence of additional anti-inflammatory mechanisms beyond the prostaglandin pathway. At the same time, the limitations of NSAIDs in chronic inflammation are well known: they do not address the key immune dysregulation

ключову імунну дизрегуляцію RA-типу, тому комбінування з імуномодулювальними агентами є логічним кроком для посилення ефекту та потенційного зменшення потреби у тривалих високих дозах (що важливо з позицій безпеки). Саме цю логіку підтримують доклінічні дані щодо МСК-секретому/екзосом: вони здатні знижувати активність прозапальних каскадів і коригувати дисбаланс Th-популяцій, що теоретично може посилювати клінічно значущий результат на тлі НПЗЗ.

Найцікавішим у представленому дослідженні є виражений ефект комбінації НІМ + КЕП, який практично нормалізував томографічний об'єм суглоба на 28-му добу. Для обговорення цього результату принципово важливо залучити найближчі релевантні джерела PubMed, оскільки термін «криоекстракт плаценти» не завжди використовується в міжнародній літературі у тотожно-технологічному значенні. Водночас існують сучасні експериментальні роботи з використанням екстракту плаценти людини (ЕПЛ; *human placental extract* – HPE) на моделі ПАФ-індукованого артриту у щурів. У дослідженні [46] ЕПЛ застосовували як компонент терапії (зокрема у комбінаціях) у ПАФ-артриті; автори повідомляли про протизапальний/антиартритний потенціал, включно зі змінами системних цитокінів (IL-6, TNF- α та ін.) і покращенням гістопатологічної картини кістки/суглоба при комбінованих режимах. Наявність такого джерела є критично важливою для нашої інтерпретації, бо підтверджує сам принцип: плацентарні екстракти можуть виступати як імуномодулювальний ад'ювант у ПАФ-артриті, що робить наші спостереження щодо НІМ + КЕП біологічно обґрунтованими.

Разом із тим, коректно зазначити і межі екстраполяції: (1) у роботі [46]. ЕПЛ не є криоекстрактом у технологічному сенсі; (2) дизайн терапії (шляхи введення, комбінації, точки оцінки) може істотно відрізнятися; (3) кінцеві точки там переважно включають системні маркери та гістологію, тоді як у нас – КПКТ-морфометрія. Саме тому наше обговорення обережно формулює механізм як гіпотезу, що потребує подальшої верифікації.

З позицій сучасної імунопатогенетичної моделі RA, найімовірнішим поясненням синергії НПЗЗ + БКБЗ є паралельний вплив на різні «поверхи» запалення: НПЗЗ зменшують простагландиново-опосередковані прояви (біль, вазодилатація, ексудація), тоді як БКБЗ (КС-МСК та плацентарні екстракти) потенційно знижують активність NF- κ B-залежних каскадів, модулюють цитокінову мережу TNF- α /IL-6/IL-17 і сприяють відновленню регуляторних ланок (Treg/IL-10/TGF- β). Такий «двоударний» механізм добре узгоджується з тим, що на моделях CIA введення МСК-екзосом зменшує як клінічні прояви (шкал набряку/артриту), так і структурні uszkodження (ерозії/кісткові зміни за мікро-КТ), а також коригує цитокіновий профіль та Th-баланс [43, 44].

Додатковим аргументом на користь імунорегуляторної природи ефектів БКБЗ є те, що подібні результати відтворюються в різних видах МСК-похідних екзосом і в різних моделях: від KIA у мишей до RA-подібних моделей у щурів. Наприклад, у моделі RA у щурів (індукція колагеном II з ад'ювантом) застосування екзосом пуповинних МСК із miR-140-3p асоціювалося зі зменшенням uszkodження суглоба через специфічний молекулярний шлях (SGK1) [47]. Хоча ці дані не є прямою копією нашого дизайну, вони

characteristic of RA-type pathology; therefore, combining them with immunomodulatory agents is a logical step to enhance efficacy and potentially reduce the need for prolonged high doses (important from a safety perspective). This logic is supported by preclinical data on MSC secretome/exosomes, which are capable of reducing activity of pro-inflammatory cascades and correcting Th-cell imbalance, theoretically amplifying the clinically relevant effect in the context of NSAID therapy.

The most intriguing finding of the present study is the pronounced effect of the NIM + PCE combination, which almost normalized the tomographic joint volume on day 28. For interpretation of this result, it is essential to consider the closest relevant PubMed sources, since the term «placental cryoextract» is not always used in international literature in a strictly identical technological sense. Nevertheless, there are contemporary experimental studies using human placental extract (HPE) in CFA-induced arthritis models in rats. In study [46], HPE was used as a component of therapy (including in combinations) in CFA arthritis; the authors reported anti-inflammatory/anti-arthritic potential, including changes in systemic cytokines (IL-6, TNF- α , etc.) and improvement of bone/joint histopathology under combined regimens. The existence of such evidence is critically important for our interpretation, as it confirms the principle that placental extracts can act as immunomodulatory adjuvants in CFA arthritis, rendering our observations with NIM + PCE biologically plausible.

At the same time, it is appropriate to note the limits of extrapolation: (1) in study [46], HPE is not a cryoextract in a strict technological sense; (2) therapeutic designs (routes of administration, combinations, assessment time points) may differ substantially; (3) endpoints there primarily included systemic markers and histology, whereas ours relied on CBCT morphometry. For this reason, our discussion cautiously frames the mechanism as a hypothesis requiring further verification.

From the standpoint of modern immunopathogenetic models of RA, the most likely explanation for the synergy between NSAIDs and CF-CBPs is their parallel action on different «levels» of inflammation: NSAIDs reduce prostaglandin-mediated manifestations (pain, vasodilation, exudation), whereas CF-CBPs (MSC-CM and placental extracts) potentially suppress NF- κ B-dependent cascades, modulate the TNF- α /IL-6/IL-17 cytokine network, and promote restoration of regulatory pathways (Treg/IL-10/TGF- β). This «dual-hit» mechanism is well aligned with evidence from CIA models showing that MSC-derived exosomes reduce both clinical manifestations (edema/arthritis scores) and structural damage (erosions/bone changes by micro-CT), while also correcting cytokine profiles and Th-cell balance [43, 44].

An additional argument in favor of the immunoregulatory nature of CF-CBP effects is the reproducibility of similar results across different MSC-derived exosome types and experimental models. For example, in a rat RA model (collagen II induction with adjuvant), administration of umbilical cord MSC-derived exosomes enriched with miR-140-3p was associated with reduced joint damage via a specific molecular pathway (SGK1) [47]. Although these data are not a direct replica of our design, they underscore a general pattern: cell-free MSC-derived products can exert not merely symptomatic but pathogenetically relevant effects at the level of intracellular regulators of inflammation and tissue remodeling.

підкреслюють загальну закономірність: безклітинні продукти МСК можуть бути не просто «симптоматичними», а мати патогенетично значущі ефекти на рівні внутрішньоклітинних регуляторів запалення та ремоделювання тканин.

Практична цінність нашого підходу полягає також у методології об'єктивізації: КПКТ-морфометрія дає відтворюваний кількісний параметр, який інтегрує локальний набряк/гіперплазію та ймовірні структурні перебудови. З огляду на те, що сучасні мікро-КТ-дослідження в КІА демонструють можливість кількісно описувати кісткові параметри та пов'язувати їх із запальними медіаторами, використання томографії як інструменту моніторингу динаміки на моделях артриту виглядає виправданим і «в руслі» міжнародної практики [45].

Отже, сумарно наші дані підтримують гіпотезу, що комбінації НПЗЗ з БКБЗ здатні забезпечувати клінічно-значуще (для моделі) послаблення суглобових змін, причому виявлені «найкращі пари» (NIM + КЕП; КЕТ + КС-МСК) можуть відобразити різницю в механізмах взаємодії конкретного НПЗЗ із певним типом біологічного ад'юванта. Цей висновок узгоджується з доклінічними доказами для МСК-секретому/екзосом у КІА та з наявними (хоч і обмеженими) доказами участі плацентарних екстрактів як компонента терапії в ПАФ-артриті.

The practical value of our approach also lies in its methodological objectification: CBCT morphometry provides a reproducible quantitative parameter integrating local edema/hyperplasia and probable structural remodeling. Given that modern micro-CT studies in CIA demonstrate the feasibility of quantitatively describing bone parameters and linking them to inflammatory mediators, the use of tomographic imaging as a tool for monitoring disease dynamics in arthritis models appears justified and fully consistent with international practice [45].

In summary, our data support the hypothesis that combinations of NSAIDs with CF-CBPs can provide clinically meaningful (within the model) attenuation of joint changes, and that the identified «best pairs» (NIM + PCE; KET + MSC-CM) may reflect differences in interaction mechanisms between a specific NSAID and a particular type of biological adjuvant. This conclusion is consistent with preclinical evidence for MSC secretome/exosomes in CIA and with the available (albeit limited) evidence supporting the role of placental extracts as therapeutic components in CFA-induced arthritis.

ВИСНОВКИ

У щурів з ад'ювантним артритом без лікування об'єм I плесно-фалангового суглоба за даними конусно-променевої комп'ютерної томографії зріс на 147,4% до 28-ї доби порівняно з «0» днем ($p < 0,01$) та додатково збільшився на 29,0% між 14-ю і 28-ю добами ($p < 0,01$), що свідчить про прогресуючий характер запального ураження.

Монотерапія німесулідом та кеторолаком на 28-му добу зменшувала об'єм суглоба відповідно на 38,2% і 46,3% порівняно з показниками нелікованих щурів ($p < 0,001$ в обох випадках), однак ці показники залишалися достовірно вищими за вихідний рівень на 49,2% ($p < 0,01$) та 34,1% ($p < 0,01$), що вказує на обмежену ефективність монотерапії.

Комбіноване застосування німесуліду з кріоекстрактом плаценти та кеторолаку з кондиціонованим середовищем мезенхімальних стовбурових клітин на 28-му добу забезпечувало найбільш виражене зменшення об'єму суглоба – відповідно на 54,6% і 53,3% порівняно з показниками нелікованих тварин ($p < 0,001$), із наближенням показників до інтактного рівня (перевищення на 10,8%, $p < 0,05$, та 14,9%, $p < 0,01$), що підтверджує перевагу комбінованої протизапальної терапії.

CONCLUSIONS

In rats with untreated adjuvant arthritis, the volume of the first metatarsophalangeal joint, according to cone-beam computed tomography, increased by 147.4% by day 28 compared with day «0» ($p < 0.01$) and additionally increased by 29.0% between days 14 and 28 ($p < 0.01$), indicating a progressive nature of inflammatory joint damage.

Monotherapy with nimesulide or ketorolac on day 28 reduced joint volume by 38.2% and 46.3%, respectively, compared with untreated rats ($p < 0.001$ in both cases); however, these values remained significantly higher than baseline by 49.2% ($p < 0.01$) and 34.1% ($p < 0.01$), indicating limited efficacy of monotherapy.

Combined treatment with nimesulide plus placental cryoextract and ketorolac plus mesenchymal stem cell-conditioned medium on day 28 provided the most pronounced reduction in joint volume, by 54.6% and 53.3%, respectively, compared with untreated animals ($p < 0.001$), with values approaching the intact level (exceeding baseline by 10.8%, $p < 0.05$, and 14.9%, $p < 0.01$), confirming the superiority of combined anti-inflammatory therapy.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Kondo N., Kuroda T., Kobayashi D. Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, № 20. P. 10922. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222010922>
2. Firestein G.S., McInnes I.B. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*. 2017. Vol. 46, № 2. P. 183–196. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006>
3. Гладких Ф.В. Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артриту: від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують

REFERENCES

1. Kondo N., Kuroda T., Kobayashi D. Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(20):10922. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222010922>
2. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*. 2017;46(2):183–96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006>
3. Hladkykh FV. Modern understanding of the immunological basis of rheumatoid arthritis: from post-translational modification of proteins to the use of disease-modifying antirheumatic drugs. *East*

- хворобу. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2023. Т. 11, № 4. С. 326–336. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336)
4. Fujimoto S., Niiro H. Pathogenic role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Medicine*. 2025. Vol. 14, № 18. P. 6409. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14186409>
 5. Han P., Liu X., He J., Han L., Li J. Overview of mechanisms and novel therapies on rheumatoid arthritis from a cellular perspective. *Frontiers in Immunology*. 2024. Vol. 15. P. 1461756. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1461756>
 6. Zayoud M., Marcu-Malina V., Vax E., Jacob-Hirsch J., Elad-Sfadia G., Barshack I., et al. Ras signaling inhibitors attenuate disease in adjuvant-induced arthritis via targeting pathogenic antigen-specific Th17-type cells. *Frontiers in Immunology*. 2017. Vol. 8. P. 799. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00799>
 7. Hashimoto M. Th17 in animal models of rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Medicine*. 2017. Vol. 6, № 7. P. 73. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm6070073>
 8. Caiazza E., Ialenti A., Cicala C. The relatively selective cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide: what's going on? *European Journal of Pharmacology*. 2019. Vol. 848. P. 105–111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.01.044>
 9. Mahmoodi A.N., Patel P., Kim P.Y. Ketorolac. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025.
 10. Munoz-Perez E., Gonzalez-Pujana A., Igartua M., Santos-Vizcaino E., Hernandez R.M. Mesenchymal stromal cell secretome for the treatment of immune-mediated inflammatory diseases: latest trends in isolation, content optimization and delivery avenues. *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13, № 11. P. 1802. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111802>
 11. Terraza-Aguirre C., Campos-Mora M., Elizondo-Vega R., Contreras-López R.A., Luz-Crawford P., Jorgensen C., et al. Mechanisms behind the immunoregulatory dialogue between mesenchymal stem cells and Th17 cells. *Cells*. 2020. Vol. 9, № 7. P. 1660. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9071660>
 12. Aghajani S., Maboudi S.A., Seyhoun I., Nia R.R., Shabestari A.N., Sharif S., et al. Review of mesenchymal stem cell-derived exosomes and their potential therapeutic roles in treating rheumatoid arthritis. *Molecular Biology Reports*. 2025. Vol. 52, № 1. P. 229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10290-z>
 13. Múzes G., Sipos F. Mesenchymal stem cell-derived secretome: a potential therapeutic option for autoimmune and immune-mediated inflammatory diseases. *Cells*. 2022. Vol. 11, № 15. P. 2300. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11152300>
 14. Hladkykh F., Student V., Liadova T., Lykhatska H., Komorovsky R., Smiyan S. Conditioned medium of mesenchymal stem cells: dual anti-inflammatory and analgesic effects in rheumatoid arthritis model. *Archives of the Balkan Medical Union*. 2025. Vol. 60, № 4. P. 483–491. DOI: <https://doi.org/10.31688/ABMU.2025.60.4.04>
 15. Gao Y.F., Zhao N., Hu C.H. Harnessing mesenchymal stem/stromal cells-based therapies for rheumatoid arthritis: mechanisms, clinical applications, and microenvironmental interactions. *Stem Cell Research & Therapy*. 2025. Vol. 16, № 1. P. 379. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04495-z>
 16. Alimu Y., Yamamoto T., Nakahata Y. Biological effects of human placental extracts – variations in manufacturing methods and compositions. *Frontiers in Pharmacology*. 2025. Vol. 16. P. 1707890. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1707890>
 17. Gwam C., Ohanele C., Hamby J., Chughtai N., Mufti Z., Ma X. Human placental extract: a potential therapeutic in treating osteoarthritis. *Annals of Translational Medicine*. 2023. Vol. 11, № 9. P. 322.
 18. Schadow J.E., Maxey D., Smith T.O., Finnilä M.A.J., Manske S.L., Segal N.A., et al. Systematic review of computed tomography parameters used for the assessment of subchondral bone in osteoarthritis. *Bone*. 2024. Vol. 178. P. 116948. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2023.116948>
 19. McKay R.M., Vapniarsky N., Hatcher D., Carr N., Chen S., Verstraete F.J.M., et al. The diagnostic yield of cone-beam computed tomography for degenerative changes of the temporomandibular joint in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. Vol. 8. P. 720641. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.720641>
 20. Svensson C.M., Hoffmann B., Irmeler I.M., Straßburger M., Figge M.T., Saluz H.P. Quantification of arthritic bone degradation by analysis of 3D micro-computed tomography data. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. P. 44434. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep44434>
 21. Гладких Ф.В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Монографія. Вінниця: Твори, 2022. 216 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
 22. Stills H.F.Jr. Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *ILAR Journal*. 2005. Vol. 46, № 3. P. 280–293. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280>
 23. Fletcher D.S., Widmer W.R., Luell S., Christen A., Orevillo C., Shah S., et al. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats. *Ukrainian Medical Journal*. 2023;11(4):326–36. (in Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336)
 4. Fujimoto S., Niiro H. Pathogenic role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Medicine*. 2025;14(18):6409. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14186409>
 5. Han P., Liu X., He J., Han L., Li J. Overview of mechanisms and novel therapies on rheumatoid arthritis from a cellular perspective. *Frontiers in Immunology*. 2024;15:1461756. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1461756>
 6. Zayoud M., Marcu-Malina V., Vax E., Jacob-Hirsch J., Elad-Sfadia G., Barshack I., et al. Ras signaling inhibitors attenuate disease in adjuvant-induced arthritis via targeting pathogenic antigen-specific Th17-type cells. *Frontiers in Immunology*. 2017;8:799. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00799>
 7. Hashimoto M. Th17 in animal models of rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Medicine*. 2017;6(7):73. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm6070073>
 8. Caiazza E., Ialenti A., Cicala C. The relatively selective cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide: what's going on? *European Journal of Pharmacology*. 2019;848:105–111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.01.044>
 9. Mahmoodi AN, Patel P, Kim PY. Ketorolac. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
 10. Munoz-Perez E, Gonzalez-Pujana A, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Mesenchymal stromal cell secretome for the treatment of immune-mediated inflammatory diseases: latest trends in isolation, content optimization and delivery avenues. *Pharmaceutics*. 2021;13(11):1802. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111802>
 11. Terraza-Aguirre C, Campos-Mora M, Elizondo-Vega R, Contreras-López RA, Luz-Crawford P, Jorgensen C, et al. Mechanisms behind the immunoregulatory dialogue between mesenchymal stem cells and Th17 cells. *Cells*. 2020;9(7):1660. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9071660>
 12. Aghajani S, Maboudi SA, Seyhoun I, Nia RR, Shabestari AN, Sharif S, et al. Review of mesenchymal stem cell-derived exosomes and their potential therapeutic roles in treating rheumatoid arthritis. *Molecular Biology Reports*. 2025;52(1):229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10290-z>
 13. Múzes G, Sipos F. Mesenchymal stem cell-derived secretome: a potential therapeutic option for autoimmune and immune-mediated inflammatory diseases. *Cells*. 2022;11(15):2300. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11152300>
 14. Hladkykh F, Student V, Liadova T, Lykhatska H, Komorovsky R, Smiyan S. Conditioned medium of mesenchymal stem cells: dual anti-inflammatory and analgesic effects in rheumatoid arthritis model. *Archives of the Balkan Medical Union*. 2025;60(4):483–91. DOI: <https://doi.org/10.31688/ABMU.2025.60.4.04>
 15. Gao YF, Zhao N, Hu CH. Harnessing mesenchymal stem/stromal cells-based therapies for rheumatoid arthritis: mechanisms, clinical applications, and microenvironmental interactions. *Stem Cell Research & Therapy*. 2025;16(1):379. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04495-z>
 16. Alimu Y, Yamamoto T, Nakahata Y. Biological effects of human placental extracts – variations in manufacturing methods and compositions. *Frontiers in Pharmacology*. 2025;16:1707890. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1707890>
 17. Gwam C, Ohanele C, Hamby J, Chughtai N, Mufti Z, Ma X. Human placental extract: a potential therapeutic in treating osteoarthritis. *Annals of Translational Medicine*. 2023;11(9):322
 18. Schadow JE, Maxey D, Smith TO, Finnilä MAJ, Manske SL, Segal NA, et al. Systematic review of computed tomography parameters used for the assessment of subchondral bone in osteoarthritis. *Bone*. 2024;178:116948. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2023.116948>
 19. McKay RM, Vapniarsky N, Hatcher D, Carr N, Chen S, Verstraete FJM, et al. The diagnostic yield of cone-beam computed tomography for degenerative changes of the temporomandibular joint in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:720641. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.720641>
 20. Svensson CM, Hoffmann B, Irmeler IM, Straßburger M, Figge MT, Saluz HP. Quantification of arthritic bone degradation by analysis of 3D micro-computed tomography data. *Scientific Reports*. 2017;7:44434. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep44434>
 21. Hladkykh FV. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic and adverse effects, ways of their optimization. Vinnytsia: Tvory; 2022:216. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
 22. Stills HF Jr. Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *ILAR Journal*. 2005;46(3):280–93. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280>
 23. Fletcher DS, Widmer WR, Luell S, Christen A, Orevillo C, Shah S, Visco D. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats.

- The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1998. Vol. 284, № 2. P. 714–721.
24. Zhang J., Li P., Guo H.F., Liu L., Liu X.D. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of diclofenac in normal and Freund's complete adjuvant-induced arthritic rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2012. Vol. 33, № 11. P. 1372–1378. DOI: <https://doi.org/10.1038/aps.2012.67>
25. Thoman C.J. The versatility of polysorbate 80 (Tween 80) as an ionophore. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1999. Vol. 88, № 2. P. 258–260. DOI: <https://doi.org/10.1021/js980216n>
26. Студент В.О., Гладких Ф.В., Лядова Т.І. Плацентарні екстракти як полікомпонентна система регуляції: технологічні підходи до отримання та багаторівневий вплив на клітинну, тканинну й органну функціональність. *Клінічна та профілактична медицина*. 2025. Т. 8, № 46. С. 118–133. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.8.2025.13>
27. Грищенко В.І., Морозова Т.Ф., Воротилін О.М., Моїсєєв В.О., Гольцєв А.М., Грищенко О.В., та ін. Приготування та зберігання кріоконсервованої суспензії плаценти для клінічного використання. Методичні рекомендації. Харків, 1997. 19 с.
28. Goltsev A.M., Yurchenko T.M., Blazhko E.V., Bobyryeva L.E., Heraskyna L.R., Hryshchenko V.Y., et al. Placenta: cryopreservation, clinical application. Kharkiv, 2013. 268 p.
29. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів : дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.35 – Кріомедицина. – Харків, 2004. – 326 с. – URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0504U000610/>
30. Гладких Ф.В. Оцінка впливу кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та кріоекстрактів біологічних тканин на прояви цитолітичного синдрому при експериментальному аутоімунному гепатиті. *Одеський медичний журнал*. 2024. Т. 6, № 191. С. 45–50. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8>
31. Нестерук Г.В., Алабедалькарім Н.М., Колот Н.В., Комаромі Н.А., Проценко О.С., Легач Є.І. Вплив кондиціонованих середовищ від культур гліальних клітин на репродуктивну систему самиць шурів різного віку. *Проблеми ендокринної патології*. 2022. Т. 79, № 2. С. 88–96. DOI: <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2022.2.13>
32. Mathen C.E. Stem cell conditioned media for clinical and cosmetic applications. Patent A61K35/12. Application PCT/IN2018/050078. 2018. Publication of WO2018150440A1. URL: <https://patents.google.com/patent/WO2018150440A1/>
33. Глоба В.Ю. Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції. Дисертація PhD: спец. 222 – Медицина. Харків, 2021. 156 с. URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0821U100913/>
34. Стефанов О.В., ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ: Авіцена, 2001. 527 с. URL: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77>
35. Du F., Lu L.J., Fu Q., Dai M., Teng J.L., Fan W., et al. T-614, a novel immunomodulator, attenuates joint inflammation and articular damage in collagen-induced arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2008. Vol. 10, № 6. P. R136. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar2554>
36. Aviles-Herrera J., Angeles-Lopez G.E., Deciga-Campos M., Gonzalez-Trujano M.E., Moreno-Perez G.F., Reyes-Chilpa R., et al. Quercetin reduces antinociceptive but not the anti-inflammatory effects of indomethacin, ketorolac, and celecoxib in rats with gout-like pain. *Molecules*. 2025. Vol. 30, № 15. P. 3196. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules30153196>
37. Al-Ekrish A.A., Ekram M. A comparative study of the accuracy and reliability of multidetector computed tomography and cone beam computed tomography in the assessment of dental implant site dimensions. *Dentomaxillofacial Radiology*. 2011. Vol. 40, № 2. P. 67–75. DOI: <https://doi.org/10.1259/dmfr/27546065>
38. Kamburoğlu K., Ereş G., Akgün C. Qualitative and quantitative assessment of alveolar bone destruction in adult rats using CBCT. *Journal of Veterinary Dentistry*. 2019. Vol. 36, № 4. P. 245–250. DOI: <https://doi.org/10.1177/0898756420911108>
39. Zar J.H. Biostatistical analysis. 5th ed. Englewood: Prentice-Hall, 2014. 960 p.
40. Yan F., Robert M., Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2017. Vol. 9, № 5. P. 157–163.
41. Meng Q., Qiu B. Exosomal microRNA-320a derived from mesenchymal stem cells regulates rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte activation by suppressing CXCL9 expression. *Frontiers in Physiology*. 2020. Vol. 11. P. 441. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00441>
42. Tavasolian F., Hosseini A.Z., Soudi S., Naderi M. miRNA-146a improves immunomodulatory effects of MSC-derived exosomes in rheumatoid arthritis. *Current Gene Therapy*. 2020. Vol. 20, № 4. P. 297–312. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566523220666200916120708>
43. Tian X., Wei W., Cao Y., Ao T., Huang F., Javed R., et al. Gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes are immunosuppressive in preventing collagen-induced arthritis. *Journal of Cellular*
- The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1998;284(2):714–21.
24. Zhang J, Li P, Guo HF, Liu L, Liu XD. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of diclofenac in normal and Freund's complete adjuvant-induced arthritic rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2012;33(11):1372–8. DOI: <https://doi.org/10.1038/aps.2012.67>
25. Thoman CJ. The versatility of polysorbate 80 (Tween 80) as an ionophore. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1999;88(2):258–60. DOI: <https://doi.org/10.1021/js980216n>
26. Student VO, Hladkykh FV, Liadova TI. Placental extracts as a multicomponent regulatory system: technological approaches to production and multilevel effects on cellular, tissue, and organ functionality. *Clinical and Preventive Medicine*. 2025;8(46):118–33. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.8.2025.13>
27. Hrishchenko VI, Morozova TF, Vorotilin OM, Moiseiev VO, Holtsnv AM, Hryshchenko OV, Prokopiuk OS, Oipina OV, Khodko OT. Preparation and storage of cryopreserved placental suspension for clinical use. Kharkiv; 1997:19. (in Ukrainian).
28. Goltsev AM, Yurchenko TM, Blazhko EV, Bobyryeva LE, Heraskyna LR, Hryshchenko VY, Hubyna-Vakulyk HY, Dvornyk YL. Placenta: cryopreservation, clinical application. Kharkiv; 2013:268.
29. Shepitko VI. Structural and functional characteristics of cryopreserved liver and the effect of its transplantation on the morphofunctional state of a number of internal organs [dissertation]. Kharkiv; 2004. 326 p. (in Ukrainian). URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0504U000610/>
30. Hladkykh FV. Evaluation of the effect of conditioned medium of mesenchymal stem cells and cryoextracts of biological tissues on manifestations of cytolytic syndrome in experimental autoimmune hepatitis. *Odesa Medical Journal*. 2024;6(191):45–50. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8>
31. Nesteruk HV, Alabedalkarim NM, Kolot NV, Komaromi NA, Protsenko OS, Lehach YI. Effect of conditioned media from glial cell cultures on the reproductive system of female rats of different ages. *Problems of Endocrine Pathology*. 2022;79(2):88–96. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2022.2.13>
32. Mathen CE. Stem cell conditioned media for clinical and cosmetic applications. Patent A61K35/12. PCT application PCT/IN2018/050078. World Intellectual Property Organization; 2018. WO2018150440A1. <https://patents.google.com/patent/WO2018150440A1/>
33. Hloba VY. Application of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction. PhD dissertation. Kharkiv; 2021:156. (in Ukrainian). <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0821U100913/>
34. Stefanov OV, editor. Preclinical studies of medicinal products. Methodological recommendations. Kyiv: Avicenna; 2001:527. (in Ukrainian). URL: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77>
35. Du F, Lu LJ, Fu Q, Dai M, Teng JL, Fan W, et al. T-614, a novel immunomodulator, attenuates joint inflammation and articular damage in collagen-induced arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2008;10(6):R136. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar2554>
36. Aviles-Herrera J, Angeles-Lopez GE, Deciga-Campos M, Gonzalez-Trujano ME, Moreno-Perez GF, Reyes-Chilpa R, et al. Quercetin reduces antinociceptive but not the anti-inflammatory effects of indomethacin, ketorolac, and celecoxib in rats with gout-like pain. *Molecules*. 2025;30(15):3196. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules30153196>
37. Al-Ekrish AA, Ekram MA. A comparative study of the accuracy and reliability of multidetector computed tomography and cone beam computed tomography in the assessment of dental implant site dimensions. *Dentomaxillofacial Radiology*. 2011;40(2):67–75. DOI: <https://doi.org/10.1259/dmfr/27546065>
38. Kamburoğlu K, Ereş G, Akgün C. Qualitative and quantitative assessment of alveolar bone destruction in adult rats using CBCT. *Journal of Veterinary Dentistry*. 2019;36(4):245–50. DOI: <https://doi.org/10.1177/0898756420911108>
39. Zar JH. Biostatistical analysis. 5th ed. Englewood: Prentice-Hall; 2014:960.
40. Yan F, Robert M, Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2017;9(5):157–63.
41. Meng Q, Qiu B. Exosomal microRNA-320a derived from mesenchymal stem cells regulates rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte activation by suppressing CXCL9 expression. *Frontiers in Physiology*. 2020;11:441. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00441>
42. Tavasolian F, Hosseini AZ, Soudi S, Naderi M. miRNA-146a improves immunomodulatory effects of MSC-derived exosomes in rheumatoid arthritis. *Current Gene Therapy*. 2020;20(4):297–312. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566523220666200916120708>
43. Tian X, Wei W, Cao Y, Ao T, Huang F, Javed R, et al. Gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes are immunosuppressive in preventing collagen-induced arthritis. *Journal of Cellular*

- and *Molecular Medicine*. 2022. Vol. 26, № 3. P. 693–708. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17086>
44. Fu Y., Li J., Zhang Z., Ren F., Wang Y., Jia H., et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate collagen-induced arthritis by balancing the population of Th17 and regulatory T cells. *FEBS Letters*. 2022. Vol. 596, № 20. P. 2668–2677. DOI: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14460>
45. Okumura G., Kondo N., Sato K., Yamazaki K., Ohshima H., Kawashima H., et al. Experimental arthritis and Porphyromonas gingivalis administration synergistically decrease bone regeneration in femoral cortical defects. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, № 1. P. 20031. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56265-6>
46. Elbasha Y.I., Mesbah N.M., Abdel-Hamed A.R., Abo-Elmatty D.M., Bakry S., Mansour A.M., et al. Effect of autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells in treatment of rheumatoid arthritis. *Transplant Immunology*. 2023. Vol. 80. P. 101890. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2023.101890>
47. Huang Y., Chen L., Chen D., Fan P., Yu H. Exosomal microRNA-140-3p from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates joint injury of rats with rheumatoid arthritis by silencing SGK1. *Molecular Medicine*. 2022. Vol. 28, № 1. P. 36. DOI: <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00451-2>
- and *Molecular Medicine*. 2022;26(3):693–708. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17086>
44. Fu Y, Li J, Zhang Z, Ren F, Wang Y, Jia H, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate collagen-induced arthritis by balancing the population of Th17 and regulatory T cells. *FEBS Letters*. 2022;596(20):2668–77. DOI: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14460>
45. Okumura G, Kondo N, Sato K, Yamazaki K, Ohshima H, Kawashima H, et al. Experimental arthritis and Porphyromonas gingivalis administration synergistically decrease bone regeneration in femoral cortical defects. *Scientific Reports*. 2019;9(1):20031. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56265-6>
46. Elbasha YI, Mesbah NM, Abdel-Hamed AR, Abo-Elmatty DM, Bakry S, Mansour AM, et al. Effect of autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells in treatment of rheumatoid arthritis. *Transplant Immunology*. 2023;80:101890. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2023.101890>
47. Huang Y, Chen L, Chen D, Fan P, Yu H. Exosomal microRNA-140-3p from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates joint injury of rats with rheumatoid arthritis by silencing SGK1. *Molecular Medicine*. 2022;28(1):36. DOI: <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00451-2>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що інтерпретація результатів обмежена видовими/модельними чинниками, умовами утримання та ресурсними рамками. Досліди *in vivo* на щурасамцях у стандартизованих умовах із однією дозою, переважно сурогатними показниками та коротким періодом спостереження не дають підстав для остаточних висновків щодо тривалої безпеки та клінічної релевантності. Розмір груп по 7 особин і часткова рандомізація (розподіл тварин за групами без засліплення дослідника) знижують точність і підвищують ризик систематичних помилок; міжлабораторної реплікації не виконано, тож зовнішня валідність і переносимість на людину обмежені. Для зменшення впливів дотримано Настанов щодо повідомлення про дослідження на тваринах (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* – ARRIVE) і Належної лабораторної практики (*Good Laboratory Practice* – GLP), стандартизовано протоколи, детально описано статистичні процедури. Результати є попередніми; підтвердження потребує багатоцентрових повторень, аналізу доза–ефект, включення обох статей і різних вікових груп, використання органоїдів/людських тканин та оцінювання клінічно значущих кінцевих точок.

Limitations of the study

The authors of the manuscript explicitly acknowledge that the interpretation of the results is limited by species-/model-related factors, housing conditions, and resource constraints. *In vivo* experiments in male rats under standardized conditions with a single dose, predominantly surrogate indicators, and a short observation period do not provide grounds for definitive conclusions regarding long-term safety and clinical relevance. Group sizes of seven animals and partial randomization (allocation of animals to groups without investigator blinding) reduce precision and increase the risk of systematic bias; interlaboratory replication was not performed, therefore external validity and translatability to humans are limited. To mitigate these influences, the Guidelines for reporting animal research (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* – ARRIVE) and Good Laboratory Practice (*Good Laboratory Practice* – GLP) were followed, protocols were standardized, and statistical procedures were described in detail. The results are preliminary; confirmation requires multicenter replication, dose–response analysis, inclusion of both sexes and different age groups, use of organoids/human tissues, and assessment of clinically meaningful endpoints.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження доцільно спрямувати на уточнення імунних механізмів синергії нестероїдних протизапальних препаратів і безклітинних біологічних засобів шляхом аналізу цитокінового профілю, клітинних імунних популяцій та маркерів ремоделювання кісткової тканини. Перспективним є вдосконалення томографічних методів кількісної оцінки суглобових змін і оптимізація режимів комбінованої терапії.

Prospects for further research

Further studies should be aimed at clarifying the immune mechanisms underlying the synergy between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cell-free biological products by analyzing cytokine profiles, cellular immune populations, and markers of bone tissue remodeling. Improvement of tomographic methods for quantitative assessment of joint changes and optimization of combined therapy regimens are considered promising.

Конфлікт інтересів

Всі автори подали до редакції заповнену Єдину форму розкриття конфлікту інтересів Міжнародного комітету редакторів медичних журналів «ICMJE» (*International Committee of Medical Journal Editors*). Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чії продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

All authors submitted to the editorial office a completed International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Unified Disclosure Form for Conflicts of Interest. The authors of the manuscript explicitly declare the absence of any actual or potential conflicts of interest related to 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 of the submitted materials or that sponsored the conducted studies.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що експериментальні дослідження проведено згідно з вимогами належної

Ethics statement

The authors of the manuscript explicitly certify that the experimental studies were conducted in accordance with the

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 схвалене Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України.

requirements of *Good Laboratory Practice* (GLP), the Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes of March 18, 1986, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, the Order of the Ministry of Health of Ukraine of December 14, 2009 No. 944 «On approval of the Procedure for conducting preclinical studies of medicinal products and examination of materials of preclinical studies of medicinal products,» the Law of Ukraine of February 21, 2006 No. 3447-IV «On the Protection of Animals from Cruel Treatment,» and other applicable regulations. The study was approved by the Ethics and Bioethics Committee of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

Використання штучного інтелекту

Use of Generative Artificial Intelligence

Автори рукопису свідомо 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.

The authors of the manuscript explicitly certify that during the conduct of the study and preparation of this manuscript they did not use any tools or services of generative artificial intelligence to perform any tasks listed in the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed exclusively by the authors without the involvement of generative artificial intelligence.

Первинні дані та матеріали

Data availability statement

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних експериментальних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники, лабораторні результати, експериментальні протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням етичних норм та правових обмежень.

The authors of the manuscript explicitly certify that the work uses the results of their own experimental studies, which were systematized and analyzed by the authors. Primary data include summarized indicators, laboratory results, experimental protocols, and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the archive of the research group and may be provided upon reasonable request to the corresponding author, subject to ethical standards and legal restrictions.

Інформація про фінансування

Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України «Клініко-патогенетичні особливості, удосконалення діагностики, прогнозування ускладнень та індивідуалізація лікувальних стратегій при травматичних ушкодженнях», номер державної реєстрації 0125U002755, термін виконання: 2025–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри, доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», доцент М.С. Матвієнко.

The study was funded by expenditures from the State Budget of Ukraine. The article is a fragment of the planned research project of the Department of General Surgery, Anesthesiology, and Palliative Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, entitled «*Clinical and pathogenetic features, improvement of diagnostics, prediction of complications, and individualization of treatment strategies in traumatic injuries*», state registration number 0125U002755, duration 2025–2028, principal investigator – the Head of the Department, Doctor of Philosophy in Health Sciences «Medicine», Associate Professor M.S. Matvieienko.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Студент Володимир Омелянович – аспірант кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; викладач Комунального закладу Львівської обласної ради «Львівський медичний фаховий коледж післядипломної освіти», вул. Івана Миколайчука, буд. 9, м. Львів, Україна, 79059; медичний директор Товариства з обмеженою відповідальністю «Медичний центр 3D Діагностика», вул. Чернігівська, буд. 18, м. Львів, Україна, 79059;
e-mail: student.volodymyr@gmail.com
mob.: +38 (098) 080-00-68

Student Volodymyr Omelianovych – Postgraduate Student of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine of the School of Medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; Lecturer of the Municipal Institution of the Lviv Regional Council «Lviv Medical Applied College of Postgraduate Education»; 9 Ivana Mykolaychuka Str., Lviv, Ukraine, 79059; Medical Director of the Limited Liability Company «Center of Medical 3D Diagnostics», 18 Chernihivska Str., Lviv, Ukraine, 79059;
e-mail: student.volodymyr@gmail.com
tel.: +38 (098) 080-00-68

Внесок автора: розробка дизайну та організація експерименту, моделювання артриту, проведення КПКТ, введення препаратів, статистична обробка даних, аналіз та інтерпретація результатів, підготовка тексту статті, формування висновків.

Author's contribution: development of the study design and organization of the experiment, arthritis modeling, performance of CBCT, drug administration, statistical data processing, analysis and interpretation of results, preparation of the manuscript text, and formulation of conclusions.

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», доцент кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; 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

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine», Associate Professor of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine of the School of Medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine of the 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

Внесок автора: загальне керівництво дослідженням, концептуалізація дослідження, методології, участь у проведенні КПКТ, контроль якості експерименту, участь у аналізі та інтерпретації результатів, наукове редагування рукопису, формування висновків.

Author's contribution: overall supervision of the study, study conceptualization, methodology development, participation in CBCT procedures, quality control of the experiment, participation in data analysis and interpretation, scientific editing of the manuscript, and formulation of conclusions.

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

Lyadova 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 of the 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

Внесок автора: наукове консультування, критичний аналіз рукопису, внесення правок, затвердження фінальної версії статті.

Author's contribution: scientific consulting, critical analysis of the manuscript, incorporation of revisions, and approval of the final version of the article.

Матвієнко Марія Сергіївна – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина» (кандидат медичних наук), доцент, завідувачка кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua
моб.: +38 (057) 705-12-36

Matvieienko Mariia Serhiivna – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine» (Candidate of Medical Sciences), Associate Professor, Head of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua
tel.: +38 (057) 705-12-36

Внесок автора: контроль дотримання протоколів та етичних вимог, перевірка достовірності отриманих даних, літературний пошук та аналітичне опрацювання джерел, фінальне редагування рукопису.

Author's contribution: monitoring compliance with protocols and ethical requirements, verification of the reliability of the obtained data, literature search and analytical processing of sources, and final editing of the manuscript.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
28.09.2025

Отримано після рецензування
Received after review
09.11.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
19.11.2025

Опубліковано
Published
24.11.2025