

Кошурба І.В. Гладких Ф.В.,
Лядова Т.І., Чиж М.О.

ГЕПАТОПРОТЕКЦІЯ: ІННОВАЦІЙНІ СТРАТЕГІЇ ТА КЛІНІЧНІ ПЕРСПЕКТИВИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ

МОНОГРАФІЯ

КОШУРБА І.В., ГЛАДКИХ Ф.В.,
ЛЯДОВА Т.І., ЧИЖ М.О.

ГЕПАТОПРОТЕКЦІЯ: ІННОВАЦІЙНІ СТРАТЕГІЇ ТА КЛІНІЧНІ ПЕРСПЕКТИВИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ

МОНОГРАФІЯ

УДК: 616.36-002+615.361+615.832.98

К 55

Рецензенти:

Пентюк Н. О. – доктор медичних наук, професор Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України;

Деримедвідь Л. В. – доктор медичних наук, професор Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України;

Антоненко П. Б. – доктор медичних наук, професор Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

К 55 **Кошурба І. В., Гладких Ф. В., Лядова Т. І. Чиж М. О.**
Гепатопротекція: інноваційні стратегії та клінічні перспективи біотехнологічних підходів. Вінниця: ТВОРИ, 2025. – 176 с.

Koshurba I. V., Hladkykh F. V., Liadova T. I., Chyzh M. O.
Hepatoprotection: innovative strategies and clinical perspectives of biotechnological approaches. Vinnytsia: TVORY, 2025. – 176 p.

ISBN 978-617-552-731-3

DOI: [10.46879/2025.1](https://doi.org/10.46879/2025.1)

Монографію присвячено експериментальному обґрунтуванню розробки інноваційного підходу до гепатопротекції та вивченню комплексу механізмів дії безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів, зокрема кріоекстракту плаценти, кріоекстракту селезінки та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. Узагальнено результати досліджень гепатопротекторних властивостей безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделях тетрахлорметанового, етанол-тетрахлорметанового, Д-галактозамінового, парацетамолового, диклофенакнатрієвого та аутоімунного уражень печінки.

Монографія буде корисною для широкого кола лікарів-клініцистів, зокрема гепатологів та гастроентерологів, а також фармакологів, біохіміків, патофізіологів та здобувачів вищої освіти медичного та фармацевтичного профілю.

Таблиць – 36, рисунків – 21, бібліографія – 251 посилання.

The monograph is dedicated to the experimental justification of the development of an innovative approach to hepatoprotection and the study of the complex mechanisms of action of acellular cryopreserved biological agents, including cryoextracts of placenta, spleen, and conditioned medium of mesenchymal stem cells. The results of studies on the hepatoprotective properties of acellular cryopreserved biological agents are generalized based on models of liver damage caused by carbon tetrachloride, ethanol-carbon tetrachloride, D-galactosamine, paracetamol, diclofenac sodium and autoimmune injury.

The monograph will be useful for a wide range of clinical doctors, especially hepatologists and gastroenterologists, as well as pharmacologists, biochemists, pathophysiologicals, and students of higher education in the medical and pharmaceutical fields.

Tables – 36, figures – 21, bibliography – 251 references.

УДК: 616.36-002+615.361+615.832.98

© Кошурба І.В., Гладких Ф.В.,
Лядова Т.І., Чиж М.О.

ISBN 978-617-552-731-3



ПЕРЕДМОВА

Захворювання печінки, як гострі, так і хронічні, набувають все більшого поширення у світі, що має значний вплив на якість життя пацієнтів і може призводити до серйозних ускладнень, що загрожують життю. Особливої уваги заслуговує зростання випадків неалкогольної жирової хвороби печінки, а також збільшення кількості гепатопатій, пов'язаних з алкоголем, що на жаль, наразі не мають ефективних медикаментозних методів лікування, за винятком контролю факторів ризику. Окрім того, пандемія COVID-19, викликана коронавірусом SARS-CoV-2, суттєво вплинула на частоту розвитку хронічних захворювань печінки, зокрема медикаментозних гострих гепатитів, а також на прогресування хронічних форм гепатитів [147].

При одночасному застосуванні кількох лікарських засобів, що є характерним для явища поліпрагмазії, зростає ймовірність медикаментозного ураження печінки. Зокрема, при прийомі шести або більше препаратів частота гепатотропних побічних ефектів може досягати 80,0% [52, 63, 108]. Медикаментозні ураження печінки займають друге місце серед причин токсичних гепатитів після тих, що викликані етиловим або метиловим спиртами та сурогатами алкоголю. Майже 50,0% випадків гострої печінкової недостатності є наслідком прийому лікарських засобів, а загальна смертність від медикаментозних уражень печінки варіюється в межах 5,0–11,9% [63]. До найбільш уживаних лікарських засобів з доведеною гепатотоксичною дією відносяться, зокрема, антибактеріальні препарати.

Хвороби органів травлення є шостою найпоширенішою причиною смерті у світі, та у 2019 р. призвели до 2,56 млн смертей. В Україні ці недуги є третьою із п'яти основних причин смерті згідно з Висновками з дослідження *Global Burden of Disease* за 2019 р. Смертність від хвороб органів травлення в населення України була зафіксована як одна з найвищих у світі [152].

Захворювання печінки уражують понад 10,0% населення планети та входять до п'яти найпоширеніших причин смерті в усьому світі [82, 132]. Неалкогольна жирова хвороба печінки є найбільш розповсюдженою патологією цього органу, зустрічається у 40,0% випадків, за нею йдуть вірусні гепатити В і С, а також ураження печінки алкоголем, що становлять відповідно 30,0%, 15,0% та 11,0% серед усіх хворих на гепатопатії [132]. Вірусні та алкогільні гепатити, медикаментозні ураження печінки, аутоімунний гепатит (АІГ), а також первинний біліарний цироз можуть з часом прогресувати до термінальних стадій захворювань печінки, що є однією з головних причин смерті у світі [121, 209].

За даними Державного закладу «Центр медичної статистики Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України» госпітальна захворюваність на хвороби органів травлення (K00–K93 згідно з Міжнародною класифікацією хвороб XI перегляду) в Україні у 2020 р. становила 430 593 випадки серед дорослого населення, з яких 11 976 – летальні випадки [9].

Крім того, печінка відіграє ключову роль у регуляції імунної системи, оскільки є важливим імунологічним толерогенним органом, здатним створювати ефективні імунні відповіді на гепатотропні патогени та підтримувати імунну толерантність до власних і чужорідних антигенів. Проте, попри наявність потужних механізмів толерантності, порушення цього балансу може призвести до розвитку аутоімунних захворювань печінки, таких як АІГ, первинний біліарний холангіт, первинний склерозуючий холангіт та IgG4-асоційований холангіт, які є хронічними запальними захворюваннями печінки з аутоімунним походженням [37, 47, 211].



РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ГЕПАТОПРОТЕКЦІЇ ТА ПЕРСПЕКТИВИ БІОЛОГІЧНОЇ ТЕРАПІЇ

1.1 Синтетичні та природні гепатопротектори у клінічній практиці

Хронічні захворювання печінки щорічно викликають цироз у понад 633 тис. пацієнтів із поширеністю від 4,5% до 9,0% у всьому світі [158]. Декомпенсація виникає приблизно у 20,0–25,0% пацієнтів з цирозом печінки, що становить 150–200 тис. пацієнтів на рік [122]. Декомпенсований цироз є 14-ю за поширеністю причиною смерті дорослих у світі та 4-ю – у Центральній Європі. Це призводить до 1 млн смертей на рік у всьому світі та 170 тис. на рік у Європі (табл. 1) [102].

Пацієнти з хронічним захворюванням печінки мають ризик виникнення позапечінкових ускладнень, пов'язаних із цирозом печінки та портальною гіпертензією, а також органоспецифічних ускладнень певних захворювань печінки. Ці ускладнення можуть погіршити якість життя, а також підвищити захворюваність і смертність до і після трансплантації печінки [57]. Існують дані, які свідчать, що у пацієнтів з цирозом печінки частота ускладнень більше (кровотечі, уповільнене загоєння та більша частота рецидивів виразки шлунка), порівняно із загальною популяцією [194]. У дослідженні *Kamalarom P. та співавт.* поширеність

пептичної виразки у пацієнтів з цирозом печінки, за даними ендоскопічних скринінгових досліджень, становила приблизно 5,0–20,0%, у порівнянні з 2,0–4,0% у загальній популяції [80]. Окиснювальний стрес, який спричиняє пошкодження тканин шлунка при цирозі, може бути одним із компонентів, що призводить до розвитку виразкової кровотечі [89]. Дослідження показали, що виразкова хвороба (ВХ) була причиною кровотечі з верхніх відділів шлунково-кишкового тракту майже у 10,0% пацієнтів з цирозом [41].

Таблиця 1

**Глобальна епідеміологія
хронічних захворювань печінки [122]**

Захворювання печінки	Захворюваність (млн)	Поширеність (%)	Поточна оцінка (млн)	Майбутня оцінка 2030 р. (млн)
Вірусний гепатит В	4,5–6	3,6	240	120
Вірусний гепатит С	3–4	2,5	170	85
Алкогольна хвороба печінки	16,6	4,5	–	19,3
Неалкогольна жирова хвороба печінки	13,6	5–8	570	16,2
Неалкогольний стеатогепатит	2,5	< 4	145	3,8

Згідно з висновками Державної установи «Центр громадського здоров'я МОЗ України» в абсолютних числах, відповідно до оціночних даних, в Україні станом на 01.01.2021 р. вірусом гепатиту С інфіковано 1 342 418 осіб, вірусом гепатиту В – 559 341 особи. У листопаді 2019 р. Україна

приєдналася до Глобальної стратегії з елімінації вірусних гепатитів В та С, ухваливши Державну стратегію протидії інфікуванню вірусом імунодефіциту людини/синдрому набутого імунодефіциту людини, туберкульозу та вірусного гепатиту до 2030 р. В рамках зазначеної Стратегії визначено ключові цілі і завдання, спрямовані на елімінацію вірусних гепатитів як загрози громадському здоров'ю. Відповідно до цілей Стратегії до 2030 р. 90,0% осіб з вірусними гепатитами мають бути виявлені та проліковані. Варто відзначити, що більша частина хворих на вірусні гепатити є особами репродуктивного віку, що спричиняє ще більший економічний та соціальний тягар, оскільки, внаслідок вертикального шляху передачі від матері до плоду зростає кількість новонароджених з гострими та хронічними формами вірусних гепатитів [15, 34, 145].

Відмічається неухильне зростання частоти розвитку хімічних гепатозів, які виникають внаслідок кумуляції в організмі різних ксенобіотиків. Гепатотоксичні ефекти мають деякі продукти побутової хімії, алкоголь, промислові отрути (хлоровані вуглеводні, похідні бензолу, напівметали), лікарські засоби (ЛЗ) – ізоніазид, німесулід, парацетамол, тетрациклін, фторотан, фурадонін, кардорон; отруйні рослини та ін. [29]. Токсичні гепатити можуть виникати незалежно від шляху надходження гепатотоксину – інгаляційного, парентерального чи ентерального, оскільки печінка забезпечує біотрансформацію практично всіх ксенобіотиків. Залежно від інтенсивності надходження гепатотоксичних речовин може відбуватись масивний некроз гепатоцитів з розвитком гострої печінкової недостатності або ж хронічна інтоксикація з поступовими дегенеративними змінами, як при хронічних вірусних гепатитах при виснаженні компенсаторних можливостей організму.

За хронічного ураження печінки токсичними речовинами частіше спостерігається розвиток жирової дистрофії на тлі змін сполучної тканини у вигляді неспецифічного реактивного гепатиту [53, 137].

Все наведене вище визначає необхідність пошуку нових резервів, а також методів корекції, спрямованих на підтримку структурної цілісності та функціональної стабільності печінки [29].

Гепатопротектори – це фармакотерапевтична група різнорідних ЛЗ, які перешкоджають руйнуванню клітинних мембран та стимулюють регенерацію гепатоцитів. В Україні наразі немає єдиної загальноприйнятої класифікації гепатопротекторів. На сьогоднішній день до гепатопротекторів належать речовини різної хімічної будови, які умовно поділяють на 6 груп [228]:

1. **гепатопротектори рослинного походження** (*легалон, силімар, карсил, росилімар, гепабене, бієносилім, сибектан, фосфонціале, гепафор, артихол та ін.*);
2. **фосфоліпідні препарати** (*есенціале, резалют, фосфоглів, еслівер, фосфонціале, ліволін, еслідин, вітрум ейконол, сикод та ін.*);
3. **похідні амінокислот** (*L-орнітин-L-аспартат, глютамін-аргінін, адеметіонін, метіонін та ін.*);
4. **препарати урсодезоксихолевої кислоти** (*гринтерол, укрлів, урослів, урсофальк, урсохол та ін.*);
5. **селеновмісні засоби** (*селеназа, лівонорм, детоксил та ін.*);
6. **препарати інших груп** (*токоферолу ацетат, кислота аскорбінова та ін.*).

За провідним механізмом дії гепатопротектори поділяють на:

1. антиоксиданти;
2. засоби, які стимулюють репарацію мембран гепатоцитів;
3. стимулятори регенерації паренхіми печінки.

Згідно з анатомо-терапевтичною класифікацією ЛЗ (АТС-класифікація), гепатопротектори займають своє місце в групі лікарських препаратів, що впливають на травну систему та метаболізм (А), призначені для лікування захворювань печінки

та жовчовивідних шляхів (A05) [228]. Назва групи при цьому звучить як «препарати, які застосовують при захворюваннях печінки, ліпотропні речовини» (A05B). До цієї групи «гепатотропних засобів» (A05BA) належать: A05BA01 – Аргініну глутамат, A05BA03 – Силібор, A05BA04 – Цитіолон, A05BA05 – Епомедіол, A05BA06 – Орнітину оксоглурат, A05BA07 – Тидіацинку аргінін, A05BA08 – Гліциризинова кислота, A05BA09 – Метадоксин, A05BA10 – Фосфоліпіди.

ЛЗ з кодом A05BA02 – α -ліпоева кислота – було виключено з групи гепатотропних засобів через його більшу значущість як препарату, призначеного для боротьби з ускладненнями цукрового діабету. В даний час ця сполука займає своє місце в індексі АТС під кодом A16AX01 – «Інші засоби, що впливають на систему травлення та метаболічні процеси. Різні речовини, що впливають на систему травлення та метаболізм» [228].

Деякі з відомих нам гепатопротекторів були поміщені в інші категорії АТС-класифікації. Так, незамінна амінокислота метіонін розташована в групі V03AB – антидоти (V03AB26), її хімічна сполука з аденозилом – адеметіонін (S-аденозил-L-метіонін, S-аденозилметіонін) – у групі «Інші засоби, що впливають на травну систему та метаболічні процеси. Амінокислоти та їх похідні». Конкретна згадка про натуральні фосфоліпіди є тільки в групі засобів, що впливають на дихальну систему, а саме у розділі R07AA «Інші засоби, що діють на респіраторну систему – Легеневі сурфактанти». ЛЗ, що містять есенціальні фосфоліпіди, отримали значне поширення, проте своє місце в АТС-класифікації як повноцінний препарат не знайшли, та враховуються статистиками країн, де ця речовина зареєстрована та дозволена до медичного застосування під універсальним кодом – A05BA50 – «Різні гепатотропні препарати». Причина подібної «мозаїчності» розташування ЛЗ гепатопротекторної дії в АТС-класифікації може бути пояснена як відсутністю єдиного міжнародно визнаного підходу до визначення цієї групи, так, і різномірністю показань до застосування [228].

Сучасна пандемія тяжкого гострого респіраторного синдрому, спричиненого COVID-19, вплинула на поширеність гострих медикаментозних гепатитів та хронічних захворювань печінки. На сьогодні наявна ціла низка діагностичних та терапевтичних засобів для лікування фіброзу печінки, портальної гіпертензії, гепатоцелюлярної карциноми та ін. Проте, незважаючи на значні досягнення в хірургічному та фармакологічному лікуванні, гострі та хронічні захворювання печінки можуть призвести до незворотного її пошкодження та, зрештою, до печінкової недостатності.

На даний момент найкращим варіантом лікування пацієнтів із термінальною стадією захворювання печінки є трансплантація печінки, проте необхідна кількість донорської печінки значно перевищує пропозицію. Все більшу роль у відновленні функції органів відіграє клітинна терапія, яка може бути інтегрована в протоколи трансплантації органів [70]. Привертають увагу клітинні лінії, що зустрічаються як у печінці плода, так і в дорослому організмі – гепатобласти, які можуть диференціюватися в холангіоцити та гепатоцити. Гепатобластам приписують провідну роль у регенеративному потенціалі печінки після пошкодження. Доведено, що гепатобласти ефективно виконують роль, яка вважалася можливою лише через нішу резидентних стовбурових клітин у печінці, подібно до того, як гемопоетичні стовбурові клітини є резидентними стовбуровими клітинами в кістковому мозку [127].

На сьогодні існує велика потреба в клітинній терапії, яку можна було б розширити в клінічно значущих кількостях. Одним із таких типів клітин є мезенхімальні (мультипотентні) стовбурові клітини (МСК). Дослідниками докладені зусилля для використання потенціалу диференціювання МСК для заміни пошкоджених гепатоцитів. Великий прогрес був досягнутий за наслідками відкриття дослідниками *Takahashi K. та Yamanaka S.* методу зворотної диференціації соматичних клітин у стан індукованої плюрипотентної стовбурової клітини [174]. Як відомо, МСК володіють власною імуномодулюючою

дією, сприяючи активації Т-клітин та здатні пригнічувати проліферацію клітинних популяцій, таких як природні кілери (NK-клітини) та макрофаги, через міжклітинний контакт та секретовані цитокіни. Встановлено, що вони деактивують зірчасті клітини печінки та на експериментальних моделях здатні сповільнювати фіброзне прогресування цирозу. На сьогодні досліджені різні методи біотехнологічного лікування уражень печінки, починаючи від трансплантації аутологічних МСК до доставки генів і модифікації клітин та отримання моноклональних антитіл. Нещодавні доклінічні та клінічні досягнення біологічної терапії як у лікуванні фіброзу печінки, так і в діагностичних заходах, є перспективними для продовження та подальшого розвитку цих досліджень [133].

Одним з перспективних напрямків біологічної терапії у пацієнтів з патологією печінки є застосування засобів, отриманих з фетоплацентарного комплексу, які містять низку біологічно активних речовин, що виявляють антиоксидантну, протизапальну, імуномодулюючу дію та уповільнюють старіння [163]. Одним з таких препаратів виступає екстракт плаценти людини.

Shen L.H. та співавт. зазначають, що екстракт плаценти може покращити структуру та функцію печінки: з одного боку, він може зменшити інтерстиціальне відкладення колагену в печінці, ліпогенез та інфільтрацію запалення; з іншого боку, він може запобігти гепатоцелюлярній дегенерації шляхом поглинання активних форм кисню та інгібування запальної продукції цитокінів, сприяти подальшій оптимізації апоптозу та некрозу гепатоцитів та активувати регенерації гепатоцитів, що робить його перспективним засобом для захисту печінки [163].

1.2 Аутоімунний гепатит – імуноопосередковане запальне захворювання печінки

АІГ характеризується гіпергаммаглобулінемією, наявністю циркулюючих аутоантитіл, ознаками гепатиту при

гістологічному дослідженні печінки та демонструє ефективність імуносупресивної терапії. Передбачуваним механізмом розвитку АГ вважається взаємодія між генетичною схильністю, пусковими факторами навколишнього середовища та недостатністю нативної імунної системи [92, 125, 143].

Захворюваність на АГ зростає в усьому світі [131]. Показники захворюваності та поширеності АГ у світі становлять 1,37 (95% довірчий інтервал (ДІ): 0,95–1,80) та 17,4 (95% ДІ: 12,0–22,9) на 100 тис. осіб відповідно. Сукупна річна захворюваність на АГ для населення Азії, Європи та Америки становить 1,3 (95% ДІ: 0,4–2,2), 1,4 (95% ДІ: 1,1–1,6) та 1,0 (95% ДІ: 0,4–1,6) на 100 тис. осіб відповідно. Сукупна поширеність для азіатського, європейського та американського населення становить 13,0 (95% ДІ: 2,1–23,9), 19,4 (95% ДІ: 15,6–23,2) та 22,8 (95% ДІ: 13,5–59,1) на 100 тис. осіб відповідно. Вищі показники захворюваності та поширеності спостерігалися у жінок, ніж у чоловіків, і вищий рівень поширеності спостерігався у літніх людей, ніж у молодих людей [114].

На жаль, характерної клінічної картини цього захворювання немає, що ускладнює його розпізнавання [131]. Перше спостереження АГ датується 1940 р., коли було відзначено хронічний гепатит з високим вмістом білків у сироватці крові у жінок [117]. У 1956 р. *Маскау I.R. та співавт.* описали захворювання печінки, яке було визначено як «люпоїдний гепатит» [115]. Пізніше від цієї назви відмовилися та замінили на АГ, оскільки стало зрозуміло, що червоний вовчак є окремою клінічною формою, яка рідко співіснує з АГ у одного пацієнта [116].

1.2.1 Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при аутоімунному гепатиті

Механізми, які лежать в основі патогенезу АГ, до кінця не з'ясовані, хоча з'являється все більше доказів того, що молекулярна мімікрія та посилена презентація аутоантигену

залучені до індукції аутоімунної відповіді, і призводять до активації аутореактивних лімфоцитів [47].

На імунну функцію печінки сильно впливає її ексклюзивна анатомія та її клітинний склад [47]. Печінка містить як звичайні, такі як дендритні клітини (ДК), В-клітини та макрофаги (клітини Купфера), так і нетрадиційні антигенпрезентуючі клітини (АПК), включаючи клітини синусоїдного ендотелію печінки, зрчасті клітини печінки та гепатоцити, які поглинають антигени, обробляють і представляють їх CD4+ та CD8+ Т-клітинам за допомогою канонічних та неканонічних механізмів, що призводить до ініціації та посилення імунних відповідей або індукції імунної толерантності [71]. Крім того, міжклітинне перенесення основних пептидних комплексів гістосумісності (*major histocompatibility complex* – МНС) через трогоцитоз і позаклітинні везикули може надати будь-якій клітині особливості АПК, хоча і з різними результатами. При аутоімунному ураженні печінки після презентації власного антигену АПК печінки активуються різні типи імунних клітин, таких як Th0, Th1 та Th2 CD4+ Т-клітини, Th17-клітини, цитотоксичні CD8+ Т-клітини, регуляторні Т-клітини (Т-reg), натуральні кілери (NK-клітини) та В-клітини разом із вивільненням цитокінів, включаючи інтерферон IFN- γ , трансформуючий фактор росту- β (TGF- β), інтерлейкін IL-10, IL-21, IL-2 та аутоантитіла [47, 71].

Відповідно до аутоантитіл, виявлених під час діагностики, можна ідентифікувати дві підгрупи АІГ: АІГ I типу (АІГ-1), що визначається наявністю антинуклеарних антитіл (ANA) та/або антитіл до гладких м'язів (SMA) та АІГ II типу (АІГ-2), пов'язаних з позитивною реакцією на аутоантитіла до печінкових/ниркових мікросомальних антитіл типу 1 (анти-LKM-1) або антитіл до цитозолу печінки типу 1 (анти-LC1) [47, 125].

Імунна регуляція в печінці значною мірою контролюється унікальними популяціями класичних, а також нетипових АПК, які можуть реагувати просторово-часово регульованим

способом, що дозволяє точно налаштувати модуляцію місцевої та системної толерантності та імунітету [71]. До нетипових АПК відносять клітини Купфера, синусоїдальні ендотеліальні клітини печінки, зірчасті клітини печінки та навіть гепатоцити, які експресують лише низькі рівні МНС-I/II та костимулюючі молекули в стабільному стані печінкового середовища [179].

Кількісний і якісний склад імунних клітин у печінці помітно відрізняється від вторинних лімфоїдних органів, таких як лімфатичні вузли, селезінка або периферична кров [179]. Співвідношення CD8+/CD4+ (3,5:1) печінкових Т-клітин є протилежним, порівняно зі співвідношенням 1:2 для CD8+/CD4+ клітин, виявлених у периферичній крові, лімфатичних вузлах та селезінці. Існує підвищена частка CD3+ CD4+ CD8+ і CD3+ CD4- CD8- Т-клітин у печінці, 15% Т-клітин експресують $\gamma\delta$ -TCR (рецептор Т-клітин, порівняно з 2,7% у селезінці). До 50% лімфоцитів, що знаходяться в печінці, представлені NK [140].

У печінці більшість ДК демонструють незрілий фенотип, який, на відміну від ДК у вторинних лімфоїдних органах, індукує толерогенне відхилення, а не імунітет, що супроводжується високою секрецією IL-10 і низькою IL-12. IL-10, який також виробляється клітинами Купфера та T-reg, відіграє ключову роль у контролі запалення печінки: дефіцит або виснаження IL-10 посилює імуноопосередковане пошкодження печінки та скасовує індукцію толерантності [179]. Вважається, що імунна відповідь при АГ ініціюється презентацією аутоантигенних пептидів Т-клітинному рецептору (TCR) некоммітованих Т-хелперних (Th0) лімфоцитів у межах молекули HLA-II АПК або в регіонарних лімфатичних вузлах, або в самій печінці (рис. 1).

Активовані Th0-клітини диференціюються в клітини Th1 або Th2 у присутності IL-12 або IL-4 відповідно до природи антигену. Це запускає каскад імунних реакцій, що визначаються цитокінами, які вони виробляють. Клітини Th1

секретують IL-2 та IFN- γ , цитокіни, які стимулюють цитотоксичні Т-лімфоцити (CTL), посилюють експресію молекул HLA I класу, індукують експресію молекул HLA II класу на клітинах печінки та активують макрофаги. Макрофаг вивільняє IL-1 та фактор некрозу пухлини (TNF) [125, 177]. Клітини Th2 секретують переважно IL-4, IL-13 та IL-21 і стимулюють вироблення аутоантитіл В-лімфоцитами, які дозрівають у плазматичні клітини (табл. 2).

1.2.2 Взаємодія між T-reg та іншими клітинами при аутоімунному ураженні печінки

T-reg клітини походять від Th0 у присутності TGF- β . Якщо T-reg є дефектними за кількістю та/або функціями, руйнування гепатоцитів є наслідком залучення пошкоджуючих ефektorних механізмів, включаючи CTL, цитокіни, що вивільняються Th1 та активованим макрофагом. Активація комплементу або адгезія НК-клітин до вкритих аутоантитілами гепатоцитів відбувається через їх Fc-рецептори [125, 177].

Клітини Th17 продукують запальні цитокіни IL-17, IL-22 та TNF і походять від клітин Th0 у присутності TGF- β та IL-6. Гепатоцит вивільняє IL-6, який додатково стимулює Th17 [125, 177].

Участь Th 17, який секретує прозапальні цитокіни IL-17, IL-22 та TNF α і сприяє секреції IL-6 гепатоцитами, була досліджена зовсім нещодавно. У дослідженні *Zhao L. та співавт.* [200] встановлено, що кількість IL-17-позитивних клітин, ідентифікованих за допомогою імуногістохімії, була вищою в запальному інфільтраті печінки при АІГ порівняно з пацієнтами з хронічним гепатитом В при зіставлюваній легкій біохімічній та гістологічній активності захворювання.

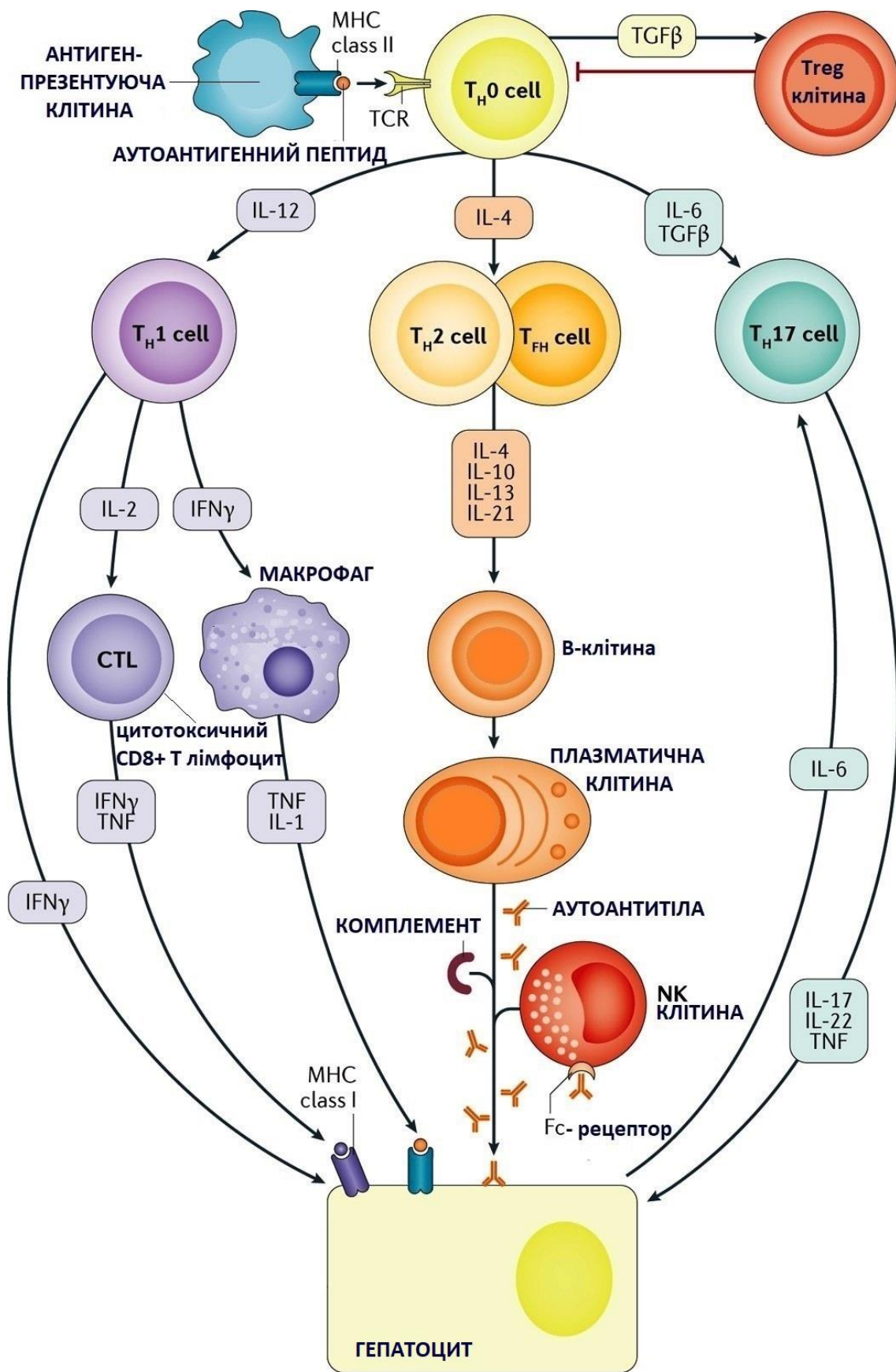


Рис. 1. Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при АІГ
(адаптовано за [125])

Антитіла при АІГ (адаптовано за [47])

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

Втрата толерантності до власних антигенів пов'язана з дисфункцією T-reg та є центральною в патогенезі АІГ [113]. T-reg складають 5-10% циркулюючих T-клітин CD4+ і конститутивно експресують поверхневий маркер CD25, який є субодиницею рецептора ІЛ-2- α , і не мають експресії CD127, ланцюга α рецептора ІЛ-7. T-reg відіграють центральну роль у підтримці імунної толерантності та були широко вивчені при АІГ, надаючи переконливі докази функціональних та численних порушень у цьому стані [156, 177].

У пацієнтів з АІГ як I, так і II типів, кількість T-reg є зниженою, і це зменшення є більш очевидним при діагностиці та під час рецидивів, ніж під час медикаментозної ремісії [106]. Відсоток T-reg обернено корелює з маркерами активності захворювання, тобто титрами аутоантитіл проти розчинного печінкового антигену (SLA – *soluble liver antigen*) та печінково-ниркового мікросомального антитіла типу 1 (LKM1 – *liver kidney microsomal antibody type 1*), це свідчить про те, що знижена кількість T-reg сприяє аутоімунітету, зосередженому на печінці [112].

Крім того, T-reg від пацієнтів з АІГ на момент встановлення діагнозу менш здатні контролювати проліферацію ефektorних клітин CD4 і CD8, порівняно з T-reg, виділеними у пацієнтів з АІГ під час ремісії захворювання або від здорових добровольців [106]. Через зв'язування галектину-9, що експресується T-reg, індукується загибель ефektorних клітин [105].

Таким чином, CD8+ T-клітини, Th17-клітини, Th22-клітини і Th1-клітини сприяють запальному ураженню печінки при АІГ (рис. 2). Перелічені клітини пригнічуються T-reg клітинами. Синусоїдальні ендотеліальні клітини печінки та NK-клітини сприяють активності T-reg, тоді як гемопоетичні стовбурові клітини можуть стимулювати супресивну дію T-reg при АІГ.

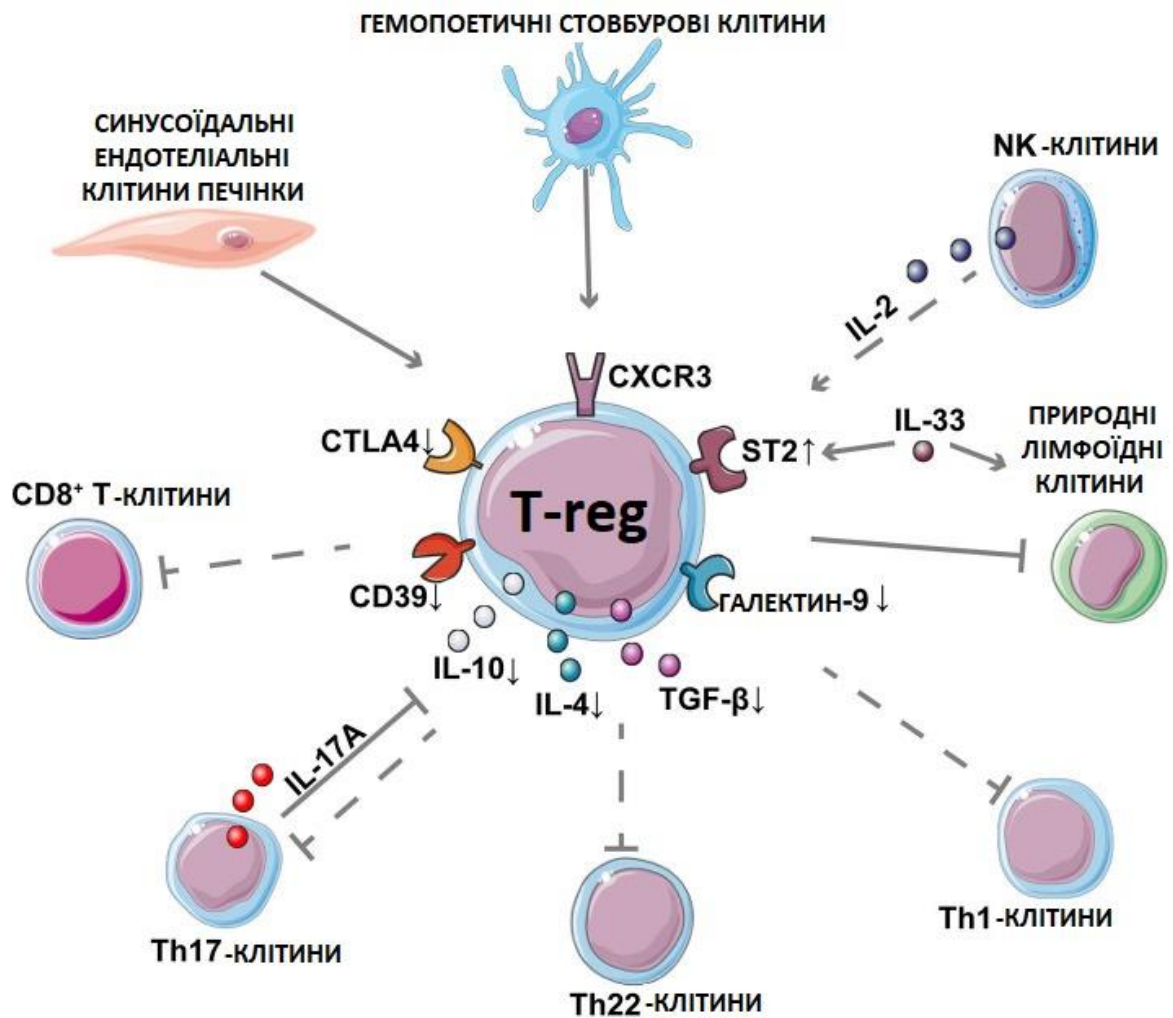


Рис. 2. Взаємодія між T-reg та іншими клітинами при АІГ (адаптовано за [189])

Примітки:

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

При АІГ CD39+ T-reg (CD39 є маркером високоактивних і супресивних T-reg) зменшується в кількості, вони не гідролізують належним чином прозапальні нуклеотиди та не контролюють ефективно продукцію IL-17 ефекторними T-клітинами. CD39+ T-reg виявляють пластичність і стають

нестабільними в запальному середовищі, це свідчить про те, що порушення імунорегуляції при АГ є результатом не тільки порушення кількості та функції T-reg, але й переходу T-reg в ефекторні клітини (див. рис. 2) [59, 177].

Крім того, повідомляється, що T-reg у пацієнтів з АГ не здатні регулювати проліферацію CD8⁺ T-клітин і вироблення цитокінів, що може сприяти ініціації пошкодження апи АГ [189].

Залучення петлі **диференціювання Th2-клітин** до АГ підтверджується наявністю плазматичних клітин у пошкодженій печінці та циркулюючих аутоантитіл, що є ключовою ознакою АГ, де вони діють як діагностичні та класифікаційні маркери. Примітно, що аутоантитіла можуть завдати шкоди самі по собі через опосередковану антитілами цитотоксичність і активацію комплементу [107].

Печінкові **НК-клітини** залишаються резидентними в печінці та, як і НКТ-клітини, активуються IL-12/IL-18, стаючи цитотоксичними та виробляючи IFN- γ . НК-клітини прямо чи опосередковано взаємодіють з печінковими АПК, такими як клітини Купфера та ДК, для контролю імунної регуляції печінки [71, 96]. Клітини Купфера мають вирішальне значення для підтримки НК-опосередкованої толерантності в печінці, оскільки вони є основними продуцентами IL-10 і TLR-індукованого вивільнення IL-18. З одного боку, IL-10 пригнічує активацію НК-клітин і підтримує їх гіпореактивний стан, тоді як IL-18 потенційно стимулює активність НК-клітин, особливо коли рівні IL-10 низькі [135].

На сьогоднішній день більшість пацієнтів з АГ, яких лікують класичними методами, демонструють довгострокову повну відповідь на лікування, але залишаються на довічній імуносупресивній терапії. Близько 10–20% пацієнтів не відповідають на терапію та демонструють прогресування захворювання до цирозу та термінальної стадії захворювання печінки [177].

Терапевтичне застосування поліклональних T-reg наразі є варіантом лікування АІГ-1. Триваюче відкрите клінічне дослідження NCT01988506 вивчає застосування низькодозової терапії ІЛ-2 для посилення функцій T-reg при аутоімунних і запальних захворюваннях, включаючи АІГ. Попередні результати продемонстрували, що розмноження та активація T-reg без ефекторної активації T-клітин має хорошу переносимість [150]. Експерименти *in vitro* показали можливість генерувати антиген-специфічні T-reg у пацієнтів з АІГ-2, які здатні пригнічувати цитотоксичну активність CD8+ T-клітин [111]. Тим не менш, необхідні подальші дослідження для підтримки стабільного та функціонального фенотипу T-reg у запальному мікрооточенні печінки [47].

1.3 Кріоконсервований екстракт плаценти (КЕП) як потенційний гепатозахисний засіб

Перспективним напрямком у лікуванні низки захворювань є застосування засобів біологічної терапії, джерелами яких виступають мікроорганізми, органи та тканини рослинного або тваринного походження, клітини або рідини (у тому числі кров та плазма) людського або тваринного походження та біотехнологічні клітинні конструкції [213, 218].

Xianfeng X. та співавт. експериментально довели терапевтичну ефективність застосування МСК, отриманих з жирової тканини, при гастропатії, індукованій індометацином [191]. Плацентарна терапія застосовується у комплексному лікуванні низки захворювань, а також для прискорення регенерації тканин з початку ХХ століття [213, 218]. У 1933 р. проф. Філатов В.П. запропонував використовувати препарати плаценти як допоміжну терапію при пересадці тканин, що дозволило йому у 1943 р. здійснити часткову наскрізну трансплантацію рогівки [60].

Добре відомо, що плацента є природним «депо» та продуцентом практично всього спектра біологічно активних

речовин, що забезпечують ріст та розвиток плоду під час внутрішньоутробного розвитку. Вона забезпечує процеси трофіки та білковий синтез, газообмін, гормонovidілення та гормонорегуляцію, регуляцію кров'яного тиску, осідання крові, антитоксичну функцію та виділення метаболітів, депонування біологічно активних речовин, імунну регуляцію, регуляцію процесів перекисного окиснення ліпідів та ін. [164, 213, 219, 222, 229, 240, 250].

У тканинах плаценти відмічається висока активність низки ферментів: дихальні ферменти (моноамінооксидаза, система цитохромоксидаз), каталаза, нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат-діафори, сукцинатдегідрогеназа, системи гістамін-гістаміназа, ацетилхолін-ацетилхолінестераза, фактори згортання крові та фібринолізу та ін. У плаценті відбувається синтез білків, що відносяться до класу інтерлейкінів (ІЛ) – ІЛ1, ІЛ6, ІЛ8, ІЛ2, однією з функцій яких є індукція гуморальних факторів неспецифічної резистентності, а секретований клітинами трансформуючий фактор росту стимулює репарацію за рахунок активації МСК та процесів неоваскуляризації [216, 139]. До складу препаратів плаценти входить ряд факторів росту (гепатоцитів (HGF), інсуліноподібний (IGF), фібробластів (FGF), епідермальний (EGF), нервів (NGF), колонієстимулюючий (CSF)) та системних білкових та стероїдних гормонів, цитомединів, імунних факторів та ін. [139, 213, 216]. У тканинах плаценти синтезуються пептиди, які є структурними аналогами ендорфінів та енкефалінів, які регулюють імунну відповідь клітинного та гуморального типу.

Відомо, що КЕП впливає на органи-мішені, стимулюючи їх функціонування, та підвищує неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища та стресових чинників, стимулює репаративні властивості при пошкодженнях та захворюваннях різного генезу [216, 227, 236].

У дослідженні [164] продемонстрована доцільність застосування кріоконсервованої плаценти у комплексній терапії гострого λ -карагінен-зумовленого запалення шлунка. У

роботі [222] встановлено, що доповнення схеми лікування подагричного артриту КЕП у пацієнтів з ожирінням призводить до нормалізації ліпідного та пуринового обмінів у цих пацієнтів. Шепітько К.В. встановив ефективність використання препаратів плаценти в умовах експериментального гострого асептичного перитоніту за даними патоморфологічних досліджень СО кишечника [164]. Експериментально доведена ефективність застосування КЕП для індукції ефективної суперовуляції на моделі хронічного запалення яєчників, за антифосфоліпідного синдрому [217]. Репін М.В. та співавт. показали здатність КЕП чинити нефропротекторну дію шляхом нормалізації морфофункціонального стану нирок [238]. Ковальов Г.А. та співавт. встановили, що препарати плаценти проявляють виразний стимулюючий вплив на процеси репарації на моделі холодних ран, зокрема шляхом зменшення мікробного обсеменення [223]. Ліхницький О.О. та співавт. довели стимулюючий вплив кріоконсервованих препаратів плаценти на процеси проліферації та диференціювання клітинних та тканинних компонентів кісткової тканини в динаміці репаративного остеогенезу після травматичного ушкодження [226].

1.4 Кріоекстракт селезінки (КЕС): біологічні властивості та технологія отримання

Відомо, що препаратами біологічної терапії (*у тому числі клітини та екстракти тканин людини та тварини*) виступають матеріали **аутологічного** (трансплантація власних тканин), **алогенного** (трансплантація «людина – людина») та **ксеногенного** (трансплантація «тварина – людина») походження [24].

Вважається, що органопрепарати володіють топічністю впливу саме на функції відповідного органа чи тканини – **ефект гомологічності**, проте варто зазначити, що пептидам,

які екстрагуються з тканин органів, не притаманна видоспецифічність [24, 207].

Серед тканин ксеногенного походження у якості потенційного джерела імуномодельючих похідних особливу увагу дослідників привертає селезінка, що зумовлено зосередженістю у ній 25% Т-клітин та 65% В-клітин від загального пулу лімфоцитів в організмі [103, 205].

У відділі експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України зосереджено великий обсяг напрацювань з кріогенної технології одержання КЕС (синонімічні назви – екстракт кріоконсервованих фрагментів селезінки, кріоекстракт ксеноселезінки), його зберігання в умовах низьких температур та результатів доклінічних та клінічних досліджень його біологічних властивостей, які лягли в основу дисертаційних досліджень *д-ра біол. наук Гальченко С.Є.* (2007 р.) [207], *канд. мед. наук Бизова В.В.* (2002 р.) [205], *канд. мед. наук Олефіренко О.О.* (2008 р.) [232], *канд. біол. наук Беспалової І.Г.* (2016 р.) [204] та ін.

Бизов В.В. у клінічних дослідженнях встановив, що ендобронхіальне введення екстракту кріоконсервованих фрагментів селезінки хворим із гнійними абсцесами легенів приводить до вірогідного поліпшення клінічного перебігу захворювання, зменшення кількості випадків переходу процесу у хронічну форму та потреби у великих оперативних втручаннях, а також скорочення середньої тривалості перебування хворих на ліжку на 7,2 дні. Ендобронхіальне введення зазначеного екстракту селезінки у хворих з абсцесами легенів забезпечує відновлення показників неспецифічного та специфічного імунітету, в першу чергу місцевих механізмів бронхолегеневого захисту шляхом активації тканинних (альвеолярних) макрофагів, сегментоядерних нейтрофілів і вільних нейтрофілів бронхоальвеолярного секрету, що спричиняє відновлення функціональної активності фагоцитуючих клітин, збільшення секреції лізоциму, а також підвищення рівня секреторного IgA та α -інтерферонів [25, 26].

Гальченко С.Є. та співавт. [50] показали, що використання суміші екстрактів печінки, селезінки та підшлункової залози свиней протягом 10 діб сприяє гальмуванню росту карциноми Герена в початковий період на 24,7%, якщо уведення починали відразу після трансплантації пухлини.

Сандомирський Б.П. та співавт. [242] розробили на основі екстракту селезінки свиней засіб для лікування ран. При введенні екстракту селезінки відмічався вищий темп загоєння опікової рани, що виражалось в прискоренні зміни фаз регенеративного процесу: скорочувалися терміни періоду клітинної інфільтрації і прискорювалося утворення грануляції. Спостерігалась рання ерадикація ран від мікроорганізмів [207].

При токсичному гепатиті екстракт селезінки сприяв достовірному, в порівнянні з контролем, зменшенню активності аланін-амінотрансферази на 5-ту добу [207].

Хворостов С.Д. та співавт. [245] довели ефективність тканинних екстрактів, у тому числі селезінки, на відновні процеси в печінці при експериментальному цирозі. Аналогічні дані продемонстровано *Олефіренко О.О. та співавт.* [231].

Технологія одержання КЕС

Гальченко С.Є. та співавт. [206] розробили методику одержання водно-сольового екстракту із кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней – КЕС.

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

Матеріал відігрівають на водяній бані з температурою 37–40°С та відмивають від кріопротектора. Від гліцерину та ПЕО-

400 фрагменти відмивають сахарозними середовищами з такою ж молярною концентрацією, як і кінцева концентрація кріопротектора, а від ПЕО-1500 – фізіологічним розчином.

Для одержання екстрактів фрагменти селезінки інкубують у фізіологічному розчині 30, 60 або 90 хв за температури 22–24°C. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівають на водяній бані 15 хв та очищують, пропускаючи через фільтрувальний папір [19, 51, 241].

Бизов В.В. та співавт. [205] встановили, що концентрація низькомолекулярних біологічно активних речовин (БАР) в екстракті селезінки, виготовленому за наведеним вище способом, перевищує концентрацію низькомолекулярних БАР в екстракті, одержаному з нативних фрагментів селезінки.

Виділення поліпептидних екстрактів з різних органів тварин стало важливим етапом у вивченні біологічної активності пептидів [86, 99]. Пептиди виконують різноманітні біологічні функції: регулюють функції ендокринної, нервової та імунної систем. Діяльність пептидів характеризується їх широким спектром біологічних властивостей, включаючи регуляцію диференціації клітин, апоптозу та проліферації.

Короткі пептиди, що складаються з 2–7 амінокислотних залишків, можуть проникати в ядра і ядерця клітин і взаємодіяти з нуклеосою, білками-гістонами, а також з одно- і дволанцюговою ДНК. Взаємодії ДНК-пептид, включаючи розпізнавання послідовностей у промоторах генів, важливі для реакцій синтезу, спрямованих на шаблон, реплікації, транскрипції та репарації. Пептиди можуть регулювати статус метилювання ДНК, яке є епігенетичним механізмом для активації або репресії генів як у нормальному стані, так і у випадках патології та старіння. У цьому контексті можна припустити, що короткі пептиди еволюційно були одними з перших сигнальних молекул, які регулювали реакції шаблонно-спрямованого синтезу [86].

Таким чином, вивчення механізмів фізіологічної активності пептидів становить великий інтерес для

дослідників, які працюють у сфері молекулярної біології, фармакології та медицини [86, 99, 214].

1.5 Кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) – інноваційний підхід до гепатопротекції при аутоімунному гепатиті

Серед різних популяцій стовбурових клітин МСК є найбільш перспективним ресурсом для клітинної терапії, зокрема запальних та дегенеративних захворювань, через їх потенціал диференціації за кількома лініями, імуномодулюючі властивості та проангіогенні характеристики [67]. Варто зазначити, що термін «мезенхімальні стовбурові клітини» у представленому огляді застосовується синонімічно до номенклатури «мезенхімальні стромальні клітини», хоча *Caplan A.I.* (2017 р.) закликає змінити назву МСК на «medicinal signaling cells», оскільки функція МСК *in vivo* є секреторною та переважно функціональною в місцях пошкодження, ураження та/або запалення, тобто *in situ* [28].

Класично МСК визначають як прикріплені, негемопоетичні клітини, які експресують поверхневі маркери CD90, CD105 і CD73 та не мають експресії CD14, CD34 і CD45. Здатність відносно швидко генерувати клінічно значущу кількість чітко визначених МСК з невеликих клінічних зразків, можливе введення без необхідності підбору гаплотипів клітин привели до широкої зацікавленості щодо їх клінічного використання [118]. Станом на 30.09.2023 р. за даними міжнародного реєстру ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov/>) у світі зафіксовано 263 клінічні дослідження, об'єктом вивчення в яких виступають властивості МСК та їх похідних. Активно накопичуються дані про застосування МСК при різних захворюваннях. Деякі дослідники повідомляли про позитивні ефекти терапії стовбуровими клітинами при дегенеративних захворюваннях та показали, що стовбурові клітини викликають відновлення

тканин завдяки своїй здатності виділяти трофічні фактори, а не тільки через їхню здатність диференціюватися в необхідні клітини [193].

Тим не менш, існує кілька перешкод для безпечної алогенної трансплантації МСК. По-перше, алогенні МСК експресують молекули МНС I класу (*major histocompatibility complex* – головний комплекс гістосумісності) та не є повністю непоміченими для імунної системи реципієнта. Таким чином, після трансплантації МСК можуть викликати алогенні імунні відповіді та провокувати загострення поточного захворювання [54]. Крім того, МСК сприятливі для інфекцій, викликаних цитомегаловірусом та вірусом простого герпесу, і, відповідно, алотрансплантації МСК несуть ризик передачі вірусу реципієнтам [67].

Різноманітні дослідження секретованих факторів, отриманих зі стовбурових клітин, показали, що зазначені фактори від МСК самі по собі, без самої стовбурової клітини, можуть привести до відновлення тканин у різних станах, які передбачають пошкодження тканин/органів [141]. За даними *Maguire G. та співавт.* до 80% регенеративного потенціалу МСК, спочатку віднесеного до трансплантованих клітин, належить паракринним секретованим клітинним факторам [119]. Вищенаведені відомості слугували підґрунтям до розробки нового підходу до біологічної терапії на основі МСК, яка б не містила самі клітини.

До **безклітинних біологічних засобів**, отриманих з клітин, належать екстракти клітин, отримані шляхом руйнування власне клітин та продукти, які утворюють живі клітини, вивільняючи їх у позаклітинне середовище. На сьогоднішній день найпоширенішими **методиками отримання екстракту клітин** є: (1) метод ультразвукової обробки, (2) хімічний лізис у поєднанні з методом ультразвукової обробки (3) осмос у поєднанні з методом ультразвукової обробки, (4) циклічне заморожування та розморожування (температурна обробка) та (5) осмос у

поєднанні з методом циклів заморожування/відтавання [168]. Так, для отримання **кріоекстракту клітин** культивовані чи нативні клітини ресуспендують у 0,9% фізіологічному розчині до концентрації 10^7 клітин/100 мкл та проводять 3 цикли заморожування (-80 °С) та відтавання (37 °С) для лізису клітин. Після центрифугування при 17000 g протягом 30 хв при 4 °С супернатант (визначений як клітинний екстракт) зберігають при -80 °С до використання [167, 168, 183].

Набір паракринних факторів (розчинні білки, нуклеїнові кислоти (ДНК, РНК та мікроРНК), ліпіди та позаклітинні (екстрацелюлярні) везикули), що виділяються живими клітинами у позаклітинний простір називають **секретомом** [10, 144]. Результати, отримані у низці досліджень, продемонстрували, що секретом, отриманий з МСК, має терапевтичні ефекти, подібні до тих, що спостерігаються після трансплантації МСК [67, 141].

Складові секретому МСК можна розділити на: (1) фактори росту, (2) прозапальні та протизапальні цитокіни та (3) інші цитокіни [67]. Серед **факторів росту** у КС-МСК ідентифіковано фактор росту ендотелію судин (*vascular endothelial-derived growth factor (GF) – VEGF*), тромбоцитів (*platelet-derived – PGF*), епідермальний (*epidermal – EGF*), інсуліноподібний I та II типів (*insulin like – IGF 1/2*), гепатоцитів (*hepatocyte – HGF*), фібробластів 2 (*fibroblast – FGF 2*), кератиноцитів/фактор росту фібробластів 7 (*keratinocyte – KGF /fibroblast – FGF 7*), тромбоцитарних ендотеліальних клітин (*platelet-derived endothelial cell – PD-ECGF*), гепаринзв'язуючий епідермальний (*heparin-binding epidermal – HB-EGF*), плацентарний (*placenta – PGF*), нейронний (*neural – NGF*), нейротрофічний фактор мозку (*brain-derived neurotrophic factor – BDNF*) та ін.

Фактори регуляції запалення, виявлені у КС-МСК, доцільно поділити на прозапальні – трансформуючий фактор росту (*transforming – TGF- β 1*) та ІЛ: ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-27, ІЛ-17Е, ІЛ-13, ІЛ-12p70, а також антагоніст рецептора ІЛ-1 (ІЛ-1ra). До

протизапальних цитокінів варто віднести ІЛ-8/СХСL-8 (*C-X-C motif chemokine ligand 8*), ІЛ-9 та ІЛ-1b. [141, 144]. Крім того у КС-МСК ідентифіковано наявність й інших цитокінів – лептин, ангіогенін, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (*granulocyte colony-stimulating factor*), гранулоцитарно-макрофагальний фактор (*granulocyte macrophage-stimulating factor*), макрофагальний фактор (*macrophage-stimulating factor*), фракталкін, хемотаксичний білок моноцитів, серпін Е-1, ендостатин/колаген XVIII, тромбоспондини 1/2, тканинний інгібітор металопротеїнази-1 та ін. Слід зазначити, що КС-МСК можна отримати з різних типів клітин за різних умов культивування, що може регулювати рівень та функцію секреторних факторів. Оцінка КС-МСК з різних джерел продемонструвала відмінності у їх складі [10, 144].

Термін «**кондиціоноване середовище**» відноситься до рідкої фази середовища клітинної культури, збагаченої секретомом культивованих клітин [166]. Культуральне середовище, збагачене секретомом від МСК під час їх росту, отримало назву **кондиціоноване середовище МСК (КС-МСК)** [87].

Кондиціоноване середовище з МСК (КС-МСК) (*mesenchymal stromal cell-conditioned media*) на сьогодні розглядається у якості самостійного терапевтичного агента, який містить біологічно активні речовини, які виділяли МСК у процесі свого росту, але **не включає екзосоми та нуклеїнові кислоти**. Хоча використання секретому МСК може бути більш комплексним, оскільки включає більш широкий спектр біологічно активних речовин, проте кондиціоновані середовища можуть бути більш стандартизованими та простими для використання [73].

За визначенням *Ivanisova D. та співавт.* [73] КС-МСК – це тип клітинного культурального середовища, яке було кондиціоноване або модифіковане паракринною дією МСК. Це середовище містить різні фактори росту, цитокіни та інші молекули, що виділяються МСК, і може використовуватися для

різних цілей, таких як стимулювання росту та диференціації клітин, вивчення сигнальних шляхів клітини та оцінка терапевтичного потенціалу МСК [153]. Найпоширенішими джерелами стовбурових клітин, які використовуються для «вироблення» кондиціонованих середовищ, є МСК кісткового мозку, жирової тканини, пульпи зуба та ін. [64].

Технологію отримання КС-МСК детально описано у роботах [18, 153]. Першим етапом вироблення кондиціонованого середовища з МСК є власне ізоляція *in vitro* МСК у статичних або динамічних умовах для отримання відповідної кількості клітин перед початком процесу кондиціонування. Після точної характеристики МСК культуральні середовища замінюють безсироватковими базальними середовищами. На цьому етапі МСК починають виділяти різні біоактивні молекули та позаклітинні везикули. Після 24–48 год. кондиціоноване середовище збирають та фільтрують, щоб видалити будь-які залишки клітин. Кондиціоноване середовище можна концентрувати за допомогою центрифугування або ультрафільтрації. Після виконання контролю якості є можливим пряме використання отриманого кондиціонованого середовища або його зберігання шляхом **кріоконсервування** [18, 104, 178].

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

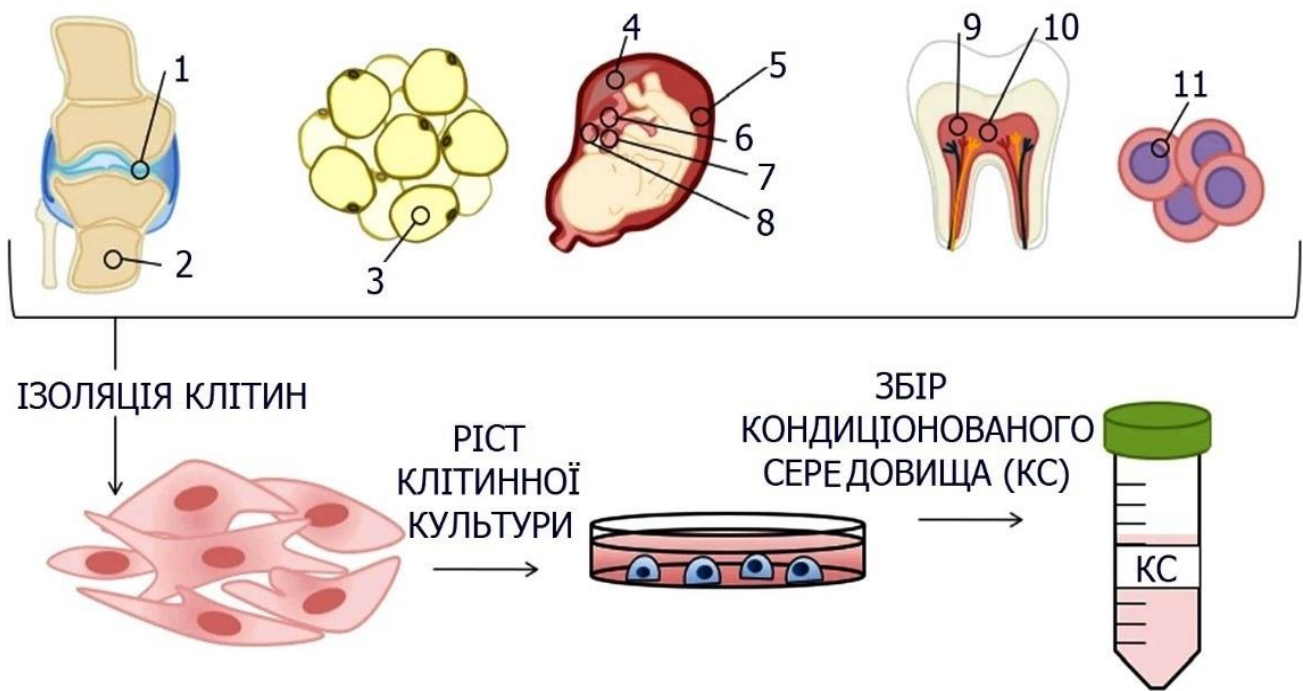


Рис. 3. Найпоширеніші джерела клітин та отримання КС
(адаптовано за [151])

Тривалий час вважалось постулатом, що міжклітинна комунікація відбувається виключно через прямий контакт між клітинами або через вивільнення розчинних молекул, які передають сигнал шляхом зв'язування з відповідним рецептором на клітині-мішені та/або через поглинання цією клітиною [61, 79]. Останнім часом увага дослідників все більше зосереджується на механізмі міжклітинного зв'язку, який включає міжклітинне перенесення **екстрацелюлярних везикул (ЕВ)** [146]. ЕВ – це оточені мембраною структури, які вивільняються більшістю типів клітин та характеризуються певним набором білків, ліпідів та нуклеїнових кислот [93].

На сьогодні добре відомо, що клітина здатна вивільняти три підтипи ЕВ, а саме екзосоми, ектосоми (мікроевезикули) та апоптотичні тільця, які виділяються клітиною у позаклітинний простір (рис. 4). Екзосоми вивільняються шляхом екзоцитозу, тоді як ектосоми виділяються шляхом брунькування плазматичної мембрани. Апоптотичні тільця вивільняються відмираючими клітинами на пізніх стадіях апоптозу та містять ядерний матеріал, клітинні органели і вміст мембрани [79].

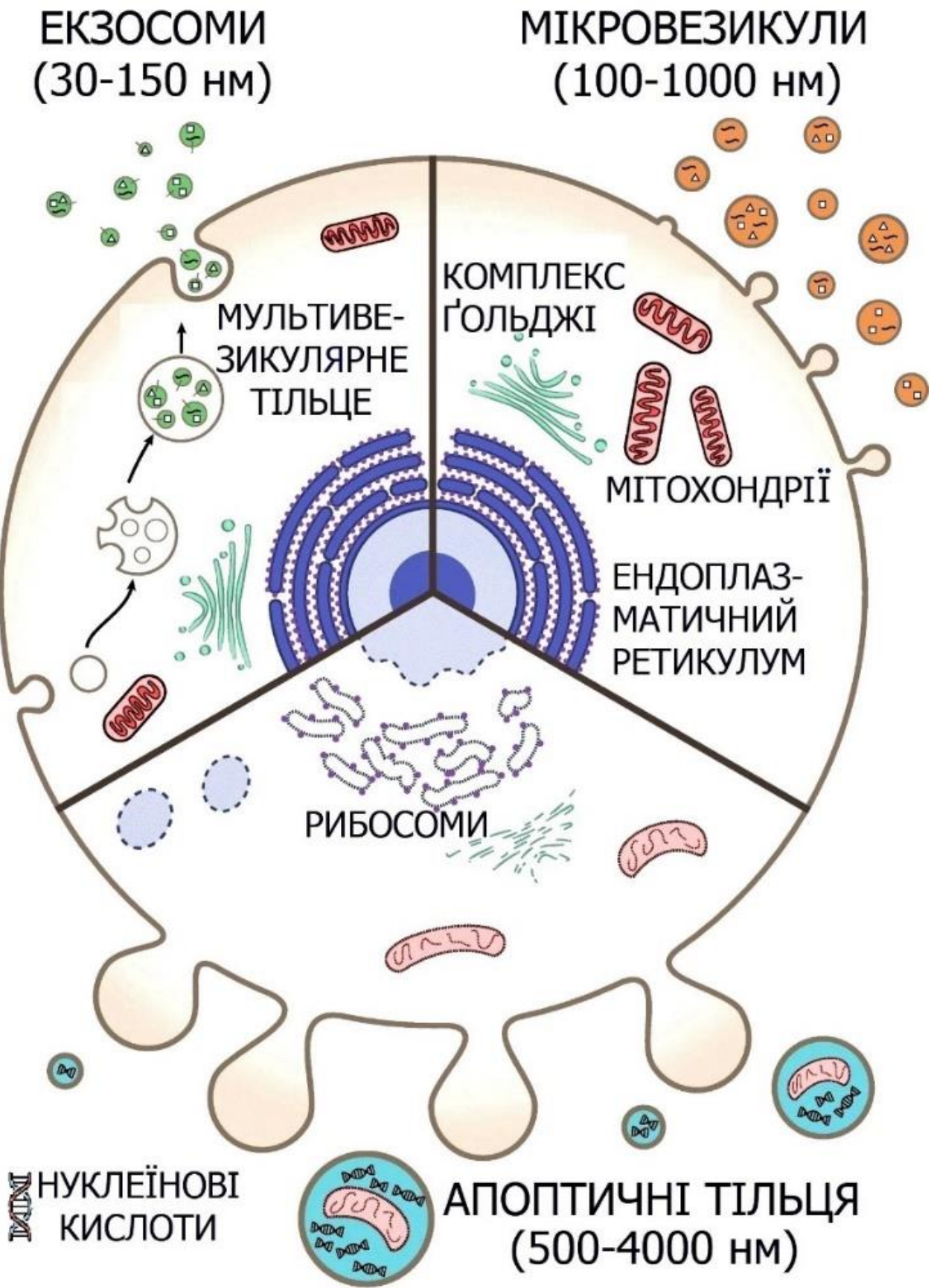


Рис. 4. Біогенез різних форм екстрацелюлярних везикул з еукаріотичної клітини (адаптовано за [128])

Апоптозні тільця, як правило, викликають протизапальну або толерогенну відповідь, коли їх поглинають сусідні клітини [98].

Термін «екзосома» спочатку використовувався для везикул розміром від 40 до 1000 нм, які вивільняються різними культивованими клітинами [182], проте пізніше цей термін було прийнято для везикул розміром 30–150 нм, що вивільняються під час диференціювання ретикулоцитів як наслідок злиття мультивезикулярної ендосоми з плазматичною мембраною [65]. ЕВ складаються з різних молекул, включаючи білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти (табл. 3). Секретовані білки беруть участь у міжклітинній комунікації та відіграють роль у клітинній сигналізації, диференціації, клітинній адгезії, ангиогенезі та апоптозі.

Зміна парадигми щодо способу дії МСК сприяла становленню уявлення про клітинний секретом як у вигляді цілісного поняття, так і у вигляді окремих його фракцій (розчинних та везикулярних субкомпонентів), як нового класу біологічних терапевтичних засобів. Дійсно, останні кілька років відмічається входження секретома МСК до низки клінічних випробувань, переважно в галузі регенеративної медицини, що повторює шлях клінічного застосування донорських клітин [55].

КС-МСК продемонстрував зіставлювану з ефектом власне МСК терапевтичну дію на різні захворювання [144], включаючи інфаркт міокарда [193], інсульт [17], травми спинного мозку [27], травми головного мозку [31], гострі та хронічні рани [126], ураження печінки [45], ураження нирок [94], ураження пародонта [83], дефекти кісток [136], пошкодження опорно-рухового апарату [185], захворювання шкіри [130], чоловіче безпліддя [154], запальний артрит [84] і розсіяний склероз [40]. Станом на 2023 р. за даними міжнародного реєстру ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov/>) у світі зареєстровано 14 клінічних досліджень, присвячених КС.

Характеристика складу екстрацелюлярних везикул [93]

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

Багатообіцяючий потенціал КС-МСК, як інноваційного безклітинного терапевтичного засобу, підкріплено низкою переваг, порівняно з використанням стовбурових клітин, зокрема КС-МСК має більший термін придатності та не вимагає складновідтворюваних умов зберігання (табл. 4) [61, 144].

На сьогодні існують різні методи отримання КС, які можуть впливати на типи та рівні факторів росту, зібрані цими методами. Характеристики КС-МСК різнитимуться в залежності від власне джерела вихідних МСК (кістковий мозок, жирова тканина, плацента та ін.), газових умов культивування – нормоксія (O_2 20,0–21,0%) або гіпоксія (0,5–1,0–1,5–2,0% O_2) [128], тривалості культивування (від 16–24–48–72 годин до 3–5 днів [21, 36, 38] та ін.).

У разі використання базового середовища коротка тривалість культивування може залишити певні сироваткові фактори росту, які не споживаються клітинами та можуть підвищити рівень фактора росту або, навпаки, пригнічувати секрецію фактора росту клітинами. Можливість присутності залишкового фактора росту в середовищі можна побачити в дослідженні, яке показало, що середовище без клітин містило рівень TGF- β 1 $2,49 \pm 2,39$ пг/мл [58].

Чи не найважливіше значення має власне культуральне середовище. Культуральне середовище в культурі *in vitro* являє собою мікрооточення в умовах *in vivo* та може визначати долю клітин і, таким чином, клітинну секрецію. В деяких дослідженнях використовували фетальну сироватку великої рогатої худоби, тоді як в інших дослідженнях використовували середовище без сироватки. Таким чином, той самий тип клітин може секретувати різний рівень факторів росту, якщо їх культивували в різному середовищі, наприклад, середовище Ігла модифіковане Дульбекко (*Dulbecco's Modified Eagle Medium – DMEM*), та його модифікації (*Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 – DMEM/F12*), α модифіковане поживне середовище Ігла (*a Minimum Essential Medium Eagle – aMEM*), середовище 199 (*Medium 199*), базальне середовище ендотелію (*Endothelial Basal Medium – EBM2*), середовище для росту ендотеліальних клітин (*Endothelial Cell Growth Medium-2 – EGM-2*) та ін. [141].

**Переваги та недоліки КС порівняно з
трансплантацією клітин [36, 38, 61, 119, 151]**

Переваги	Недоліки
1. Зниження ризику реакції «трансплантат проти господаря»	1. Недостатня вичерпність відомостей щодо складу та механізму дії факторів
2. Швидке та дешеве виробництво: обсяг КС з однієї культури	2. Необхідність оптимізації виробництва з метою стандартизації складу КС
3. Зручне зберігання та транспортування: не потребує застосування кріопротекторів	3. Висока мінливість залежно від культури клітин, типу, пасажу, стану культури та методів обробки КС
4. Процедура введення не вимагає стерильних умов: підвищення зручності використання	4. Недостатність клінічних досліджень
5. Менш інвазивне введення: не вимагає хірургічного втручання	5. Алергічні реакції на композиції культурального середовища
6. Подовжений термін зберігання за рахунок відсутності клітин	
7. Готові біопрепарати як лікарські засоби для регенеративної медицини	
8. Менший ризик пухлиноутворення завдяки безклітинному складу	

Найчастіше КС-МСК отримують у моношаровій культурі, але в деяких дослідженнях використовувалися сфероїдні культури. Культури сфероїдів потребують спеціального поводження та обладнання, але дають більше клітин порівняно зі звичайними моношаровими культурами, а отже, більше секретованих факторів [21, 36]. Крім того, клітини, розташовані в центрі сфероїда, можуть перебувати у відносному гіпоксичному стані, порівняно з клітинами на поверхні, таким чином додатково збільшуючи вихід певного фактора росту [141].

На сьогодні дослідниками запропоновано цілу низку протоколів отримання КС-МСК, які варіюють за використаним культурним середовищем та умовами культивування. Не менш важливим є подальша стандартизація отриманого КС-МСК для подальших доклінічних та клінічних досліджень. Прикладом стандартизації КС-МСК є кількісне визначення білків (наприклад, галектин-1 (умовно 6 пг/мл) та ін.) шляхом імуноферментного аналізу [58]. Галектини-1/9 – це сімейство білків, які поділяють характерні амінокислотні послідовності та спорідненість до β -галактозидних цукрів [118]. *Gieseke F. та співавт.* [56] показали, що галектин-1 відіграє важливу роль в імуномодулюючій здатності МСК.

Зважаючи на широкий терапевтичний потенціал КС-МСК *Giannasi C. та співавт.* [55] рекомендують не зосереджуватися на окремих компонентах, а скоріше націлитися на отримання загального уявлення про велику складність зазначеного багатообіцяючого безклітинного терапевтичного засобу, ефективність якого залежить саме від наявності безлічі біологічно активних факторів різної природи [212].



ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОТРОПНОЇ ДІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ГОСТРИХ УРАЖЕННЯХ ПЕЧІНКИ

Гепатотропну дію КЕП досліджували за профілактичного, лікувального та лікувально-профілактичного режимів застосування на моделях тетрахлорметан (ТХМ)-індукованого, D-галактозамінового (ДГА) та парацетамолового уражень печінки у щурів (табл. 5) [187, 244].

Експериментальні дослідження виконано з урахуванням вимог належної лабораторної практики, відображених у настанові «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика», затвердженій наказом МОЗ України №95 від 16 лютого 2009 р. і з дотриманням основних положень 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 МОЗ 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» [220, 237].

**Режими застосування КЕП, силібору та ацетилцистеїну
(АЦЦ) на тлі ураження печінки**

Тип моделі	Модель	Режим застосування КЕП (0,16 мл/кг, в/м); силібору (50 мг/кг, в/шл); АЦЦ (150 мг/кг, в/о)		
		Профілак- тичний	Лікувально- профілак- тичний	Лікувальний
Гостра	Д-галакто- заміновий гепатит	-	1 р/д - 3 дні до та 2 дні після моделювання (5 введень)	-
	Парацетамоло- вий гепатит	-	-	1 р/д (2 дні) - через 60 хв після парацетамолу та наступні 3 дні
	Тетрахлорме- тановий гепатит	1 р/д - 5 днів до введення CCl ₄	-	-
Хронічна	Хронічний тетрахлорме- тановий гепатит	-	-	1 р/д - 5 днів після моделювання (з 3-го по 7-й день)

Дослідження проведені на лабораторних щурах масою 200–220 г. До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину після чого проводилась рандомізація на групи по 7 особин в кожній із подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону з вільним доступом (*ad libitum*) до води та їжі [230]. У всіх серіях дослідження тваринам у групах наносили індивідуальні мітки. Впродовж всього експерименту контролювали масу тіла, оцінювали зовнішній вигляд та загальний стан тварин (поведінкові реакції, рефлексії, у т. ч. харчовий тощо). Для уникнення впливу на експеримент добового ритму біологічної активності досліди виконували завжди у першій половині дня з 8 до 11 год. У разі загибелі тварин піддавали розтину та проводили макроскопічний аналіз органів черевної порожнини з метою встановлення, що летальний вихід тварини не був зумовлений маніпуляційними помилками.

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням параметричних та непараметричних методів. Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді " $M \pm m$ " ($M \pm SE$), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95% ДІ 5% – 95%), де 95% ДІ: – 95% довірчий інтервал. При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді Me [LQ ; UQ], де Me – медіана, [LQ ; UQ] – верхня межа нижнього квантиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квантиля (upper quartile – UQ). Для графічного представлення даних обрано діаграми розмаху (box-and-whiskers diagram – «шухлядові» діаграми з «вусами») [192, 197].

Біохімічні методики дослідження

Матеріалом дослідження виступали сироватка цільної периферичної крові та гомогенати печінки. Зразки змішаної крові після декапітації тварин відбирали у центрифужні пробірки. Сироватку відділяли центрифугуванням впродовж 15 хв при 3000 об./хв.

Вміст реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП) визначали спектрофотометрично за методом *Asakawa T. et al.* за реакцією з тіобарбітуровою кислотою та розраховували за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda=535$ нм, враховуючи коефіцієнт молярної екстинції забарвленого у червоний колір комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹/см⁻¹ [12].

Активність каталази визначали спектрофотометрично за методом *Королюк М.А. та співавт.* за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda=410$ нм. Метод ґрунтується на здатності каталази розкладати Н₂О₂ та утворювати стійкий комплекс жовтого кольору з амоній молібдатом (4,0% – 1,0 мл), який додають для зупинки реакції Н₂О₂ з каталазою. Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) розраховували за формулою [2, 224]:

$$\text{АПІ} = (\text{Активність каталази} \times 100) / \text{Вміст ТБК-РП}$$

Активність супероксид-дисмутази (СОД) визначали спектрофотометрично за методом *Чевари С. та співавт.*, за здатністю СОД інгібувати відновлення нітротетразолію синього при наявності НАДН₂ за показниками оптичної щільності, визначеними при довжини хвилі $\lambda=540$ нм [221, 247].

Вміст аденілових нуклеотидів (аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ), аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ)) досліджували у депротейнізованому гомогенаті хроматографічним методом за *Atkinson D.E. et al.* Енергетичний заряд (ЕЗ) розраховували за формулою [13]:

$$\text{ЕЗ} = (2 \times \text{АТФ} + \text{АДФ}) / (2 \times (\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ}))$$

Активність аланінамінотрансферази (АлАт) визначали спектрофотометрично за методом *Reitman S. та Frankel S.*, який ґрунтується на тому, що внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією АлАТ, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот у лужному середовищі при довжині хвилі $\lambda=530$ (500–560) нм [148, 221].

Активність аспаратамінотрансферази (АсАт) визначали спектрофотометрично за методом *Reitman S. та Frankel S.*, який ґрунтується на тому, що внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке відбувається під дією АсАТ, утворюються L-глутамінова та щавелевоцтова кислоти, які декарбоксілюються до піровиноградної кислоти. Розраховували коефіцієнт де Рітца= $\text{АсАТ} / \text{АлАТ}$ [148, 221].

Активність γ -глутамілтранспептидази (γ -ГТП) визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на тому, що під дією γ -ГТП глутаміновий залишок з гамма-L-(+)-глутаміл-4-нітроаналіда переходить на дипептидний акцептор – гліцилгліцин. При цьому вилучається хромоген-p-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють при довжині хвилі $\lambda=405$ (400–430) нм після гальмування ензиматичної реакції ацетатною кислотою [171, 172, 221].

Вміст загального білка (ЗБ) та його фракції визначали спектрофотометричним методом за біуретовою реакцією, яка полягає в тому, що в лужному середовищі йони двовалентного купруму (CuSO_4) взаємодіють із білками з утворенням комплексу фіолетового кольору. Концентрацію білка визначали спектрофотометрично за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda=546$ нм.

Кількісне співвідношення білкових фракцій плазми крові визначали нефелометричним методом з використанням фосфатних буферів, який ґрунтується на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують альбуміни і глобуліни з утворенням суспензії, ступінь помутніння якої визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda=625$ (590–700) нм [221].

Вміст загальних ліпідів та фосфоліпідів (ФЛ) визначали спектрофотометрично за кольоровою реакцією з сульфофосфорнованіліновим реактивом, яка ґрунтується на тому, що продукти розпаду ненасичених жирних кислот, що утворюються після кислотного гідролізу ліпідів, взаємодіють з фосфорнованіліновим реактивом з утворенням забарвлених комплексів, що мають максимум поглинання при довжині хвилі $\lambda=530$ нм.

Ліпідні екстракти отримували за методом *Bligh E.G. та Dyer W.I.* ФЛ фракціонували за методом *Svetashev V.I. та Vaskovsky V.E.* шляхом двовимірної мікротонкошарової хроматографії ФЛ визначали за рівнем неорганічного фосфору [23, 184, 221].

Активність лужної фосфатази (ЛФ) визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на властивості ЛФ гідролізувати ефірний зв'язок у β -гліцерофосфаті з відщепленням фосфатної кислоти. Вміст фосфору, що утворився, визначають за реакцією з молібденовим реактивом у присутності аскорбінової кислоти [20, 221].

Концентрацію білірубину визначали спектрофотометрично за реакцією діазофенілсульфонової кислоти з прямим білірубіном. При внесенні кофеїнового

реактиву непрямий білірубін переходить в розчинний стан та з сумішшю діазореактивів дає рожево-фіолетове забарвлення. За інтенсивністю забарвлення визначали концентрацію прямого і загального білірубіну. Інтенсивність забарвлення визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda=500-560$ нм. За різницею між загальним і прямим білірубіном розраховували концентрацію непрямого білірубіну [181, 186, 221].

Концентрацію сечовини визначали спектрофотометрично за реакцією аміаку з 2-оксоглутаратом за участю глутаматгідрогепази з утворенням L-глутамінату. Швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину, яку виміряють при довжині хвилі $\lambda=340$ нм, прямо пропорційна концентрації сечовини [175, 221].

Концентрацію креатиніну визначали спектрофотометрично за реакцією пікратів з креатиніном у лужному середовищі з утворенням похідного 2,4,6-тринітроциклогексодієну жовто-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення останнього прямо пропорційна концентрації креатиніну, яку виміряють при довжині хвилі $\lambda=530$ (500–560) нм [75].

2.1 Вивчення гепатозахисних властивостей КЕП на моделі тетрахлорметан-індукованого гепатиту

Гострий тетрахлорметан (ТХМ)-індукований гепатит відтворювали шляхом внутрішньошлункового (в/шл) введення 50,0% олійного розчину CCl_4 у дозі 10 мл/кг маси тіла тварини одноразово, що викликало гостру жирову дистрофію печінки [244]. Тварин виводили з експерименту через 24 год. після введення CCl_4 . У якості референс-препарату в/шл вводили гепатопротектор силібор в дозі 50 мг/кг [249].

Відомо, що при надходженні в організм CCl_4 викликає активацію процесів ПОЛ у гепатоцитах, що призводить до руйнування мембран мітохондрій, лізосом, мікросом та вивільнення ферментів, подальшої загибелі клітин. Ініціюючим механізмом розвитку гострого CCl_4 -індукованого гепатиту у щурів виступає активація аутокаталітичного ПОЛ, викликана дією вільних радикалів, зокрема трихлорметильного (CCl_3^+) та трихлорметилпероксидного (CCl_3O_2^+), які є метаболітами CCl_4 [32, 201].

В наших дослідженнях на активацію процесів ПОЛ в тканинах печінки під дією CCl_4 вказувало підвищення вмісту ТБК-РП у 3 рази ($p < 0,01$) на тлі зниження активності каталази на 21,3% ($p = 0,15$) та СОД на 52,2% ($p < 0,001$) відносно показників інтактних щурів (табл. 6).

Встановлене накопичення продуктів ПОЛ на тлі виснаження антиоксидантної системи (АОС) призвело до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження АПІ, як інтегрального показника стану ПОЛ-АОС, на 72,1% відносно показників інтактних тварин (рис. 5).

**Вплив КЕП за профілактичного режиму введення
на біохімічні показники перекисного окиснення ліпідів
та антиоксидантної системи в гомогенатах печінки
на тлі тетраклорметан-індукованого гепатиту у щурів
($M \pm m$ (95% ДІ), n=28)**

Досліджува- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ТХМ	ТХМ + КЕП	ТХМ + Силібор
n	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	6,1±0,74 (95% ДІ: 4,7-7,6)	18,9±2,92 (95% ДІ: 13,1-24,6) $p_{1-2} < 0,01$	12,1±1,71 (95% ДІ: 8,8-15,5) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} = 0,07$	8,7±1,06 (95% ДІ: 6,6-10,8) $p_{1-4} = 0,07$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,1$
Каталаза, мкат/кг тканини	2,4±0,27 (95% ДІ: 1,9-2,9)	1,9±0,18 (95% ДІ: 1,5-2,2) $p_{1-2} = 0,15$	2,5±0,14 (95% ДІ: 2,2-2,8) $p_{1-3} = 0,7$ $p_{2-3} = 0,02$	2,6±0,36 (95% ДІ: 1,9-3,3) $p_{1-4} = 0,7$ $p_{2-4} = 0,1$ $p_{3-4} = 0,9$
СОД, ум. од. / кг	4,9±0,35 (95% ДІ: 4,2-5,6)	2,4±0,14 (95% ДІ: 2,1-2,6) $p_{1-2} < 0,001$	3,4±0,17 (95% ДІ: 3,1-3,8) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	3,9±0,21 (95% ДІ: 3,4-4,3) $p_{1-4} = 0,02$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,1$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} - рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

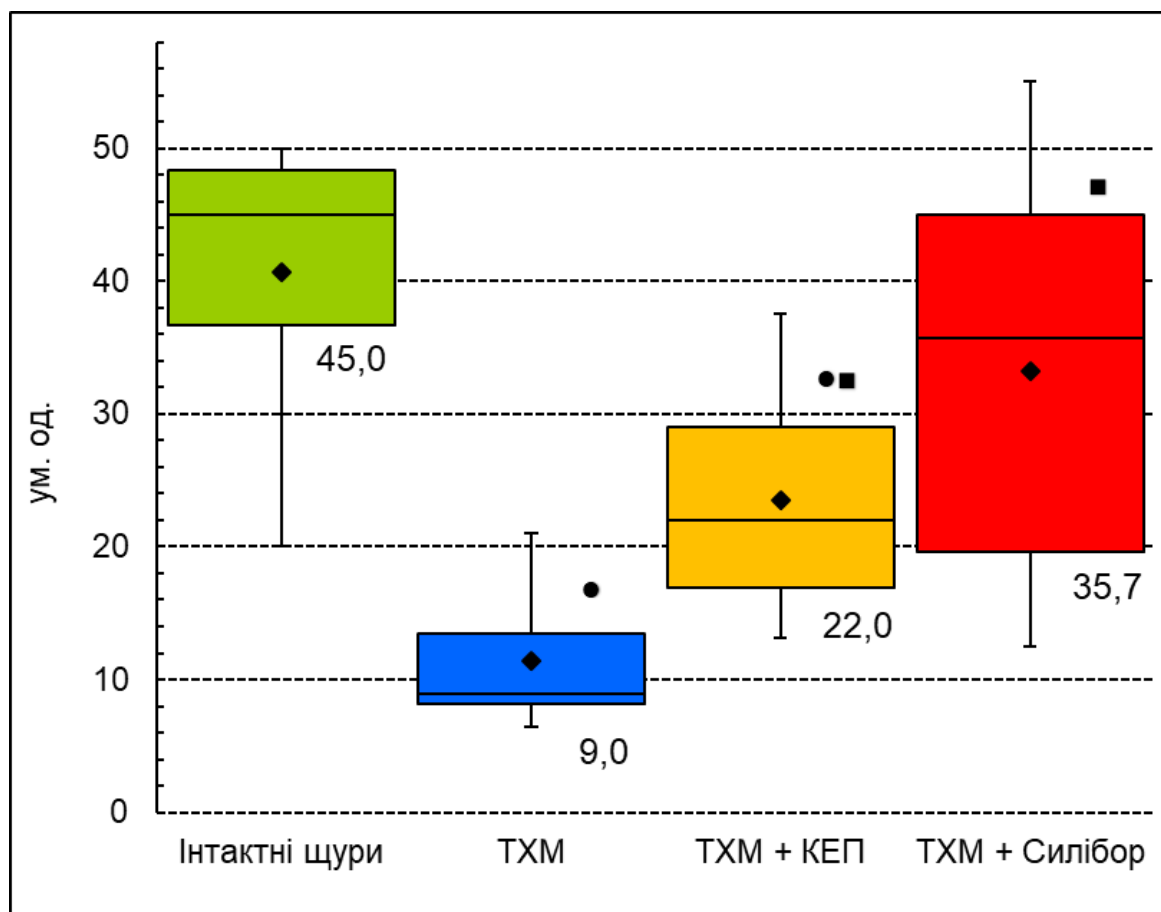


Рис. 5. Вплив КЕП за профілактичного режиму введення на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки на тлі тетрахлорметан-індукованого гепатиту у щурів

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ♦ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з гострим тетрахлорметан-індукованим гепатитом.

Крім активації процесів ПОЛ показано, що одноразове введення CCl_4 у дозі 10 мл/кг маси тіла призводило до розвитку гострого токсичного гепатиту, який супроводжується розвитком цитолізу, що підтверджується статистично

вірогідним ($p < 0,001$) зростанням АлАт та АсАт у 2,3 та 2,1 разу відповідно відносно показників інтактних щурів (табл. 7), що призводило до зниження коефіцієнта де Рітіса на 22,9% ($p < 0,01$).

Як відомо, зменшення коефіцієнта де Рітіса визначається при активації процесів глюконеогенезу через глюкозоаланіновий шунт із використанням АлАТ, який є необхідним для підтримки адекватного рівня глюкози у крові, що призводить до зростання активності трансаміназ або може вказувати на зниження функціональної активності печінки [16]. На індукцію деструктивно-запальних процесів у паренхімі печінки також вказує статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання активності γ -ГТП та ЛФ на 64,8% та 85,8% відповідно відносно показників інтактних тварин (див. табл. 7). Отримані дані узгоджуються із літературними відомостями про зростання γ -ГТП з одночасним підвищенням рівня ЛФ у 90,0% пацієнтів із захворюваннями печінки та гепатобіліарної системи. Збільшення активності γ -ГТП у сироватці крові може бути зумовлено не тільки індукуванням синтезу ферменту, а і вивільненням мембранозв'язаного пулу ферменту [100, 134].

Порівняльний аналіз гепатороптективної активності силібору та КЕП показав, що за здатністю пригнічувати CCl_4 -індуковані процеси ПОЛ досліджуваний кріоекстракт дещо поступався обраному референс-препарату. Так, вміст ТБК-РП у гомогенатах печінки статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижче у щурів, яким профілактично вводили КЕП на 35,6%, а після введення силібору був нижче на 53,8% відносно показників щурів контрольної групи, та становив $12,1 \pm 1,71$ (95% ДІ: 8,8–15,5) мкмоль/кг тканини та $8,7 \pm 1,06$ (95% ДІ: 6,6–10,8) мкмоль/кг тканини відповідно (див. табл. 7).

Таблиця 7

Вплив КЕП за профілактичного режиму введення на рівень маркерів цитолізу в сироватці крові щурів на тлі тетрахлорметан-індукованого гепатиту ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=28$)

Номер групи	Умови досліджу	n	АлАт, мкмоль / (мл × год)	АсАт, мкмоль / (мл × год)	Коефіцієнт де Рітіса (АсАт / АлАт)	γ-ГТП, Од/л	ЛФ, мкмоль / л
1	Інтактні щури	7	1,1 [1,0; 1,1]	1,7 [1,6; 1,8]	1,6±0,08 (95% ДІ: 1,4-1,8)	6,4±0,12 (95% ДІ: 6,2-6,7)	2,6±0,12 (95% ДІ: 2,4-2,8)
2	ТХМ	7	2,5 [2,5; 2,9] $p_{1-2}<0,001$	3,5 [3,1; 3,5] $p_{1-2}<0,001$	1,2±0,05 (95% ДІ: 1,1-1,3) $p_{1-2}<0,01$	10,6±0,65 (95% ДІ: 9,3-11,8) $p_{1-2}<0,001$	4,9±0,45 (95% ДІ: 4,0-5,7) $p_{1-2}<0,001$
3	ТХМ + КЕП	7	1,1 [1,0; 1,2] $p_{1-3}=0,4$ $p_{2-3}<0,001$	1,8 [1,5; 2,0] $p_{1-3}=0,28$ $p_{2-3}<0,001$	1,6±0,16 (95% ДІ: 1,3-1,9) $p_{1-3}=0,5$ $p_{2-3}=0,07$	6,6±0,61 (95% ДІ: 5,4-7,8) $p_{1-3}=0,8$ $p_{2-3}<0,001$	3,7±0,22 (95% ДІ: 3,3-4,2) $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}=0,05$
4	ТХМ + Силібор	7	1,7 [1,6; 1,8] $p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}<0,001$ $p_{3-4}<0,01$	2,5 [2,3; 2,5] $p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}<0,01$ $p_{3-4}<0,01$	1,5±0,11 (95% ДІ: 1,2-1,7) $p_{1-4}=0,1$ $p_{2-4}=0,06$ $p_{3-4}=0,3$	8,5±0,57 (95% ДІ: 7,4-9,6) $p_{1-4}<0,01$ $p_{2-4}=0,03$ $p_{3-4}=0,04$	3,2±0,05 (95% ДІ: 3,1-3,3) $p_{1-4}<0,01$ $p_{2-4}<0,01$ $p_{3-4}=0,04$

Примітки: 1 Індексми 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;

2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

З боку активності АОС встановлено зіставляване зростання рівня каталази як при застосуванні КЕП, так і при застосуванні силібору, на 33,8% та 37,6% відповідно, відносно показників щурів зі змодельованим CCl_4 -індукованим гепатитом без лікування (див. табл. 6). Крім того відмічене статистично вірогідне зростання активності СОД на 45,5% та 63,6% відносно показників тварин групи контролю відповідно на тлі застосування КЕП та силібору.

Оцінка впливу п'ятиденного профілактичного введення КЕП та силібору показала здатність кріоекстракту до більш виразного нівелювання цитолітичного синдрому на тлі модельного гострого токсичного гепатиту, порівняно з рослинним препаратом силібором. Так встановлено, що рівень АлАТ у сироватці крові щурів з ТХМ-індукованим гепатитом після введення КЕП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 56,0%, в той час як введення силібору призвело до зниження аналогічного показника ($p < 0,001$) лише на 32,0%, відносно показників щурів групи контролю (див. табл. 7). Аналогічні зміни встановлені і з боку рівня АсАТ – на тлі введення КЕП вказаний показник знизився ($p < 0,001$) на 48,6%, в той час як при застосуванні рослинного референс-препарату вказаний показник був нижчим ($p < 0,01$) на 28,6% відносно показників щурів з CCl_4 -індукованим гепатитом без лікування (див. табл. 7). Вказані зміни з боку рівня амінотрансфераз призвели до виразнішої нормалізації значення коефіцієнта де Рітіса, який на тлі введення КЕП зріс на 28,7% ($p = 0,07$), в той час як після профілактичного введення силібору аналогічний показник зріс ($p = 0,06$) на 19,5%, порівняно з показниками щурів без лікування. На виразнішу цитопротективну дію КЕП вказувало і статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівня γ -ГТП на 37,8% відносно показників щурів з CCl_4 -індукованим гепатитом без лікування (див. табл. 7).

Розвиток CCl_4 -індукованого гепатиту супроводжувався формуванням холестатичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня загального

білірубін у сироватці крові щурів контрольної групи у 4,5 разу відносно показників інтактних тварин (табл. 8).

Таблиця 8

Вплив КЕП за профілактичного режиму введення на концентрацію білірубін у сироватці крові щурів на тлі тетрахлорметан-індукованого гепатиту ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щери	ТХМ	ТХМ + КЕП	ТХМ + Силібор
n	7	7	7	7
Загальний білірубін, ммоль/л	12,0 [11,0; 12,5]	56,0 [54,5; 58,0] $p_{1-2} < 0,001$	38,0 [35,5; 39,5] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	32,0 [29,5; 32,5] $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$
Прямий білірубін, ммоль/л	$4,3 \pm 0,29$ (95% ДІ: 3,7–12,0)	$32,3 \pm 1,04$ (95% ДІ: 30,2–34,3) $p_{1-2} < 0,001$	$28,9 \pm 0,88$ (95% ДІ: 27,1–30,6) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,03$	$24,9 \pm 1,30$ (95% ДІ: 22,3–27,4) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,03$
Непрямий білірубін, ммоль/л	$8,1 \pm 0,83$ (95% ДІ: 6,5–9,8)	$24,1 \pm 0,91$ (95% ДІ: 22,4–25,9) $p_{1-2} < 0,001$	$8,4 \pm 0,95$ (95% ДІ: 6,6–10,3) $p_{1-3} = 0,82$ $p_{2-3} < 0,001$	$6,4 \pm 0,78$ (95% ДІ: 4,9–8,0) $p_{1-4} = 0,16$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,13$

Примітки:

1. Індексом 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Слід зазначити, що підвищення рівня загального білірубін відбулось переважно за рахунок кон'югованого з глюкуроною кислотою (прямого) білірубін, рівень якого зріс ($p < 0,001$) у 14,5 разу, в той час як непрямий білірубін зріс

($p < 0,001$) лише у 3 рази, відносно показників інтактних щурів, що становило $32,3 \pm 1,04$ (95% ДІ: 30,2–34,3) ммоль/л та $24,1 \pm 0,91$ (95% ДІ: 22,4–25,9) ммоль/л відповідно (див. табл. 8).

Виявлене зростання прямого білірубіну у 14,5 разу виступає опосередкованим маркером розвитку цитолітичного синдрому, оскільки через руйнування гепатоцитів відбувається збільшення міжклітинного простору, яким переміщується вміст жовчних ходів. Цьому сприяє й підвищення тиску у внутрішньопечінкових жовчних ходах, зумовлене набряком сполучної тканини при запальному процесі [69].

Профілактичне п'ятиденне введення як референс-препарату силібору, так і КЕП, приводило до зниження прояву холестатичного синдрому. Так, на тлі введення КЕП відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівня загального білірубіну на 33,9% відносно показників контрольної групи, який становив $37,3 \pm 1,06$ (95% ДІ: 35,2–39,4) ммоль/л, у свою чергу рівень прямого та непрямого білірубіну в сироватці крові знижувався на 10,6% та 65,1% відносно показників щурів групи контролю (див. табл. 8).

Оцінка стану енергетичного обміну у тканинах печінки на тлі розвитку експериментального токсичного гепатиту показала пригнічення АТФ-синтетичної функції гепатоцитів та розвиток енергодифіциту, на який вказувало статистично вірогідне зниження вмісту АТФ та АДФ відповідно на 56,9% та 55,7% на тлі зростання ($p < 0,001$) у 2,2 разу вмісту АМФ у тканинах печінки відносно показників інтактних щурів (табл. 9).

Вказані зміни співвідношення аденілових нуклеотидів у тканинах печінки на тлі розвитку CCl_4 -індукованого гепатиту призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження ЕЗ на 42,6% відносно показників інтактних щурів (рис. 6).

Введення як силібору, так і КЕП, чинило певну енергостабілізуючу дію, хоча жоден з терапевтичних агентів не відновлював у повній мірі рівні АТФ і АДФ у тканині печінки. Було відмічено статистично вірогідне ($p < 0,05$) зростання рівня ЕЗ на 38,6% та 18,2% у групах, відповідно, з силібором та КЕП

відносно показників щурів з CCl_4 -індукованим гепатитом без лікування (див. рис. 6). Це відбувалося, переважно, за рахунок збільшення вмісту АДФ (див. табл. 9).

Таблиця 9

Вплив КЕП за профілактичного режиму введення на вміст аденілових нуклеотидів та рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах печінки на тлі гострого тетрахлорметан-індукованого гепатиту у щурів ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ТХМ	ТХМ + КЕП	ТХМ + Силібор
n	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г	2,17±0,24 (95% ДІ: 1,70-2,65)	0,94±0,09 (95% ДІ: 0,76-1,11) $p_{1-2} < 0,001$	1,10±0,07 (95% ДІ: 0,96-1,24) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} = 0,17$	1,49±0,11 (95% ДІ: 1,27-1,72) $p_{1-4} = 0,03$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,02$
АДФ, мкмоль/г	1,39±0,14 (95% ДІ: 1,12-1,65)	0,61±0,06 (95% ДІ: 0,51-0,72) $p_{1-2} < 0,001$	0,91±0,10 (95% ДІ: 0,72-1,11) $p_{1-3} = 0,02$ $p_{2-3} = 0,02$	1,06±0,06 (95% ДІ: 0,93-1,18) $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,25$
АМФ, мкмоль/г	0,76±0,13 (95% ДІ: 0,50-1,02)	1,69±0,06 (95% ДІ: 1,57-1,80) $p_{1-2} < 0,001$	1,44±0,05 (95% ДІ: 1,35-1,54) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,01$	1,27±0,13 (95% ДІ: 1,01-1,53) $p_{1-4} = 0,02$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,2$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} - рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

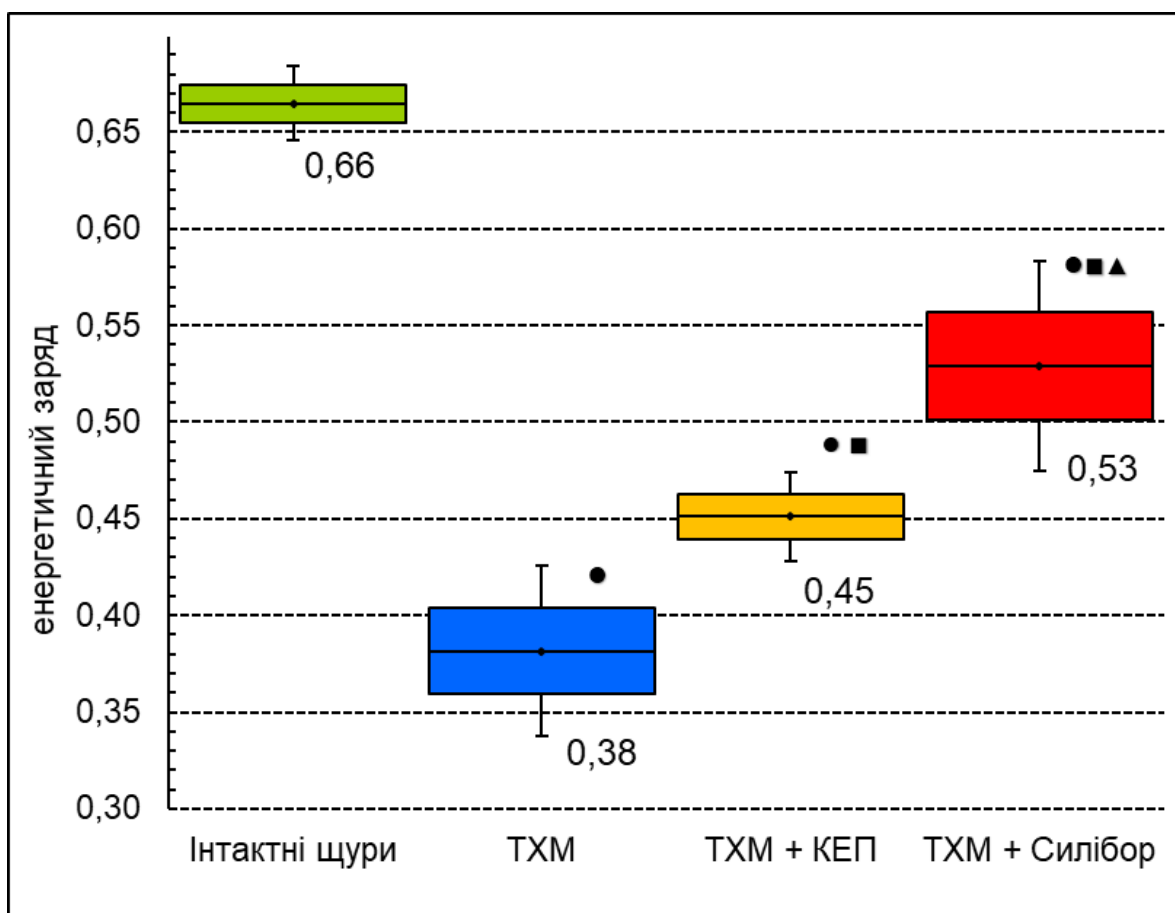


Рис. 6. Вплив КЕП за профілактичного режиму введення на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах печінки на тлі тетрахлорметан-індукованого гепатиту у щурів

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів - 95% довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу - середнє арифметичне значення.
4. ● - $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ - $p < 0,05$ відносно показників щурів з гострим тетрахлорметан - індукованим гепатитом;
6. ▲ - $p < 0,05$ відносно показників щурів з гострим тетрахлорметан - індукованим гепатитом, яким вводили КЕП.

2.2 Оцінка гепатопротекторної дії КЕП на моделі D-галактозамінового гепатиту

Експериментальну модель, яка є аналогом вірусного гепатиту людини, моделювали одноразовим в/о введенням 20,0% водного розчину аміноцукру D-галактозаміну (*Thermo Fisher Scientific, США*) 400 мг/кг (ЛД₅₀) [215]. Тварин виводили з експерименту через 48 год після введення D-галактозаміну (ДГА). У якості референс-препарату в/шл вводили гепатопротектор силібор в дозі 50 мг/кг [249]. Проведене дослідження показало, статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання вмісту ТБК-РП у гомогенатах печінки щурів контрольної групи у 2,2 разу відносно показників інтактних тварин (табл. 10).

Таблиця 10

Вплив КЕП на біохімічні показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах печінки на тлі D-галактозамінового гепатиту у щурів ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ДГА	ДГА + КЕП	ДГА + Силібор
n	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	7,4±0,41 (95% ДІ: 6,6-8,2)	16,0±1,02 (95% ДІ: 14,0-18,0) $p_{1-2} < 0,001$	9,0±0,82 (95% ДІ: 7,4-10,6) $p_{1-3} = 0,1$ $p_{2-3} < 0,001$	12,1±0,63 (95% ДІ: 10,9-13,4) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,01$
Каталаза, мкат/кг тканини	3,0±0,42 (95% ДІ: 2,2-3,8)	3,2±0,57 (95% ДІ: 2,1-4,3) $p_{1-2} = 0,8$	2,5±0,22 (95% ДІ: 2,1-2,9) $p_{1-3} = 0,3$ $p_{2-3} = 0,3$	2,9±0,32 (95% ДІ: 2,3-3,5) $p_{1-4} = 0,9$ $p_{2-4} = 0,7$ $p_{3-4} = 0,3$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

За результатами оцінки активності каталази у гомогенатах печінки статистично вірогідних порушень цього показника виявлено не було. Рівень активності каталази у щурів всіх груп був у межах 2,5–3,2 мкат/кг тканини (див. табл. 10).

Інтегральна оцінка антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу в тканинах печінки показала статистично вірогідні ($p < 0,01$) зміни у вигляді зниження АПІ у 2,0 рази на тлі розвитку ДГА-індукованого гепатиту (рис. 7).

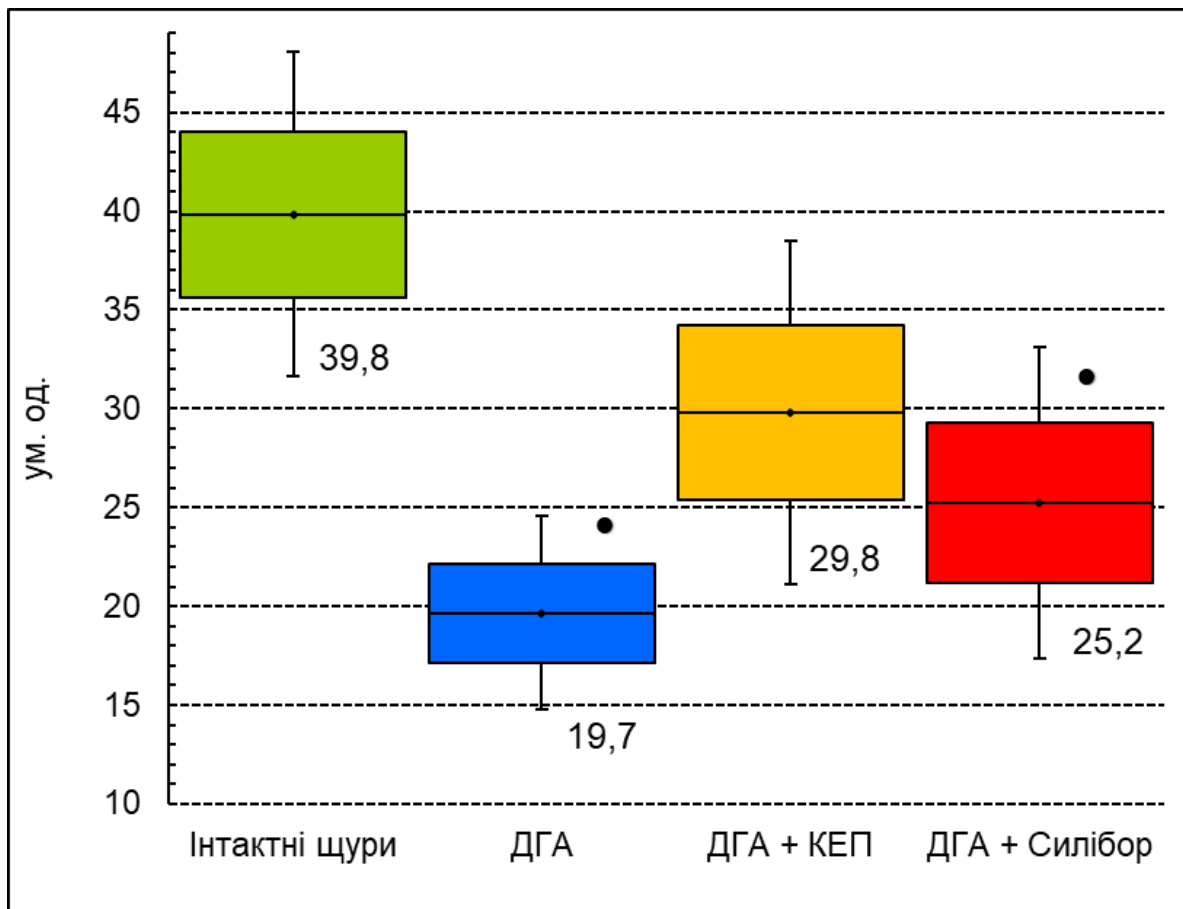


Рис. 7. Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу на тлі D-галактозамінового гепатиту у щурів

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95% довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів.

Дослідження периферичної крові показали зростання рівня амінотрансфераз на тлі розвитку експериментального гепатиту (табл. 11). Так, рівень АлАТ зріс ($p < 0,001$) у 2,2 разу, а рівень АсАТ зріс ($p < 0,001$) на 70,3% відносно показників інтактних тварин та становив відповідно $2,4 \pm 0,13$ (95% ДІ: 2,1–2,6) мкмоль/(мл×год) та $2,5 \pm 0,10$ (95% ДІ: 2,3–2,6) мкмоль/(мл×год). Зазначене непропорційне зростання маркерів цитолізу в сироватці крові призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження значення коефіцієнта де Рітиса на 24,8% відносно показників щурів інтактною групи (рис. 8).

Таблиця 11

Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів на тлі D-галактозамінового гепатиту (M±m (95% ДІ), n=28)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ДГА	ДГА + КЕП	ДГА + Силібор
n	7	7	7	7
АлАТ, мкмоль / (мл × год)	$1,1 \pm 0,11$ (95% ДІ: 0,9–1,3)	$2,4 \pm 0,13$ (95% ДІ: 2,1–2,6) $p_{1-2} < 0,001$	$1,0 \pm 0,10$ (95% ДІ: 0,8–1,3) $p_{1-3} = 0,6$ $p_{2-3} < 0,001$	$1,0 \pm 0,05$ (95% ДІ: 0,9–1,1) $p_{1-4} = 0,4$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,8$
АсАт, мкмоль / (мл × год)	$1,4 \pm 0,08$ (95% ДІ: 1,3–1,6)	$2,5 \pm 0,10$ (95% ДІ: 2,3–2,6) $p_{1-2} < 0,001$	$1,3 \pm 0,11$ (95% ДІ: 1,1–1,6) $p_{1-3} = 0,5$ $p_{2-3} < 0,001$	$1,5 \pm 0,06$ (95% ДІ: 1,4–1,6) $p_{1-4} = 0,6$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,2$

Примітки:

- Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
- p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

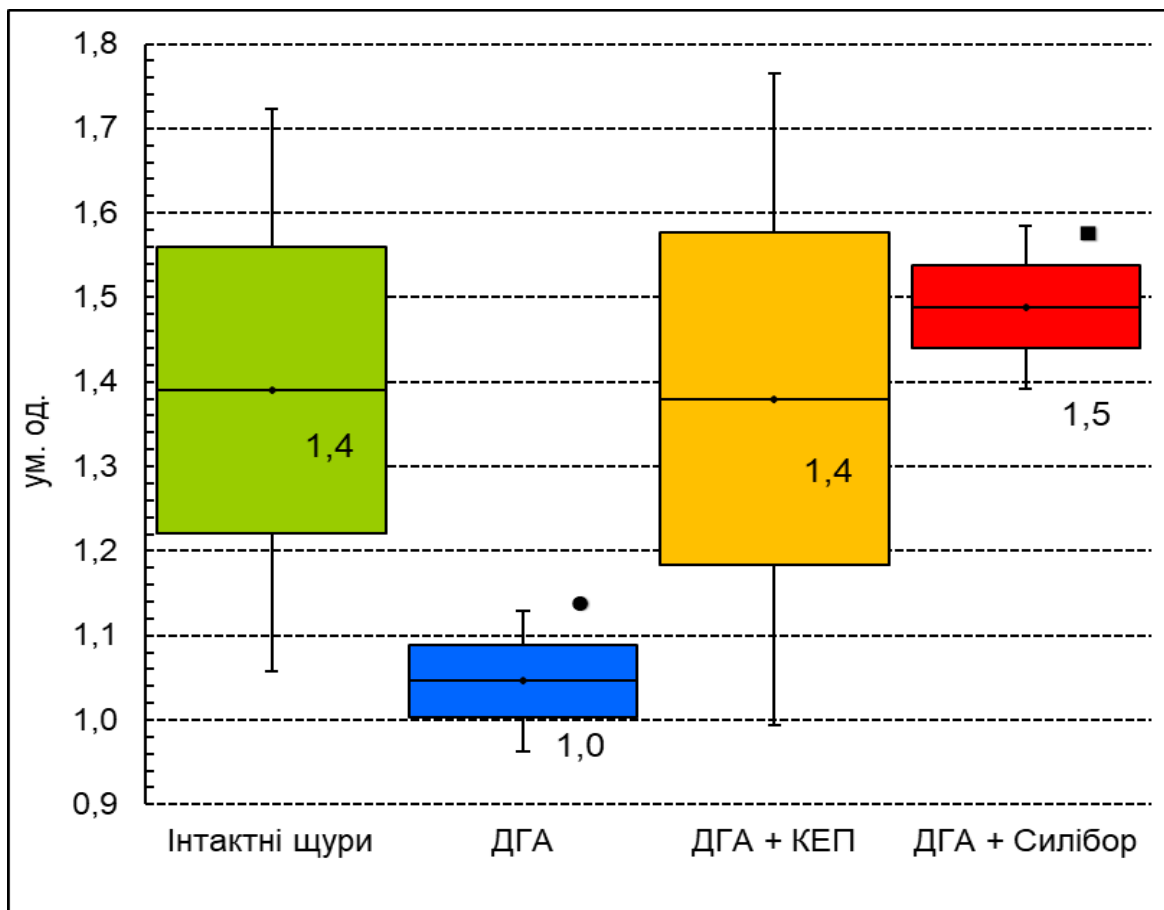


Рис. 8. Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на значення коефіцієнта де Рітіса (АсАт/АлАт) в гомогенатах печінки на тлі D-галактозамінового гепатиту

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ◆ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з D-галактозаміновим гепатитом.

З боку пігментного обміну встановлено зростання концентрації загального білірубіну в сироватці крові у 2,5 разу відносно рівня аналогічного показника в інтактних тварин (табл. 12). При цьому частка некон'югованого білірубіну знизилась у 1,9 разу та становила 35,1% від пулу загального

білірубіну, в той час як у інтактних щурів частка непрямой фракції білірубіну становила 66,6%.

Таблиця 12

Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на концентрацію білірубіну в сироватці крові щурів на тлі D-галактозамінового гепатиту (M±m (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n=28)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ДГА	ДГА + КЕП	ДГА + Силібор
n	7	7	7	7
Загальний білірубін, ммоль/л	15,0 [15,0; 17,5]	37,0 [36,0; 41,0] p ₁₋₂ <0,001	18,0 [16,5; 19,5] p ₁₋₃ =0,1 p ₂₋₃ <0,001	20,0 [17,0; 21,5] p ₁₋₄ =0,2 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ =0,15
Прямий білірубін, ммоль/л	5,6±0,43 (95% ДІ: 4,7–12,0)	24,7±1,27 (95% ДІ: 22,2–27,2) p ₁₋₂ <0,001	10,0±0,62 (95% ДІ: 8,8–11,2) p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001	6,9±0,70 (95% ДІ: 5,5–8,2) p ₁₋₄ =0,15 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,01
Непрямий білірубін, ммоль/л	10,7±0,42 (95% ДІ: 9,9–11,5)	13,7±0,52 (95% ДІ: 12,7–14,7) p ₁₋₂ <0,001	7,9±0,67 (95% ДІ: 6,5–9,2) p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₃ <0,001	12,6±0,61 (95% ДІ: 11,4–13,8) p ₁₋₄ =0,03 p ₂₋₄ =0,18 p ₃₋₄ <0,001

Примітки:

1. Індексми 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Зростання вмісту загального білірубіну переважно було зумовлено статистично вірогідним (p<0,001) зростанням рівня прямого білірубіну (див. табл. 12), показник якого збільшився у

4,4 разу, порівняно із показниками інтактних щурів, та становив $24,7 \pm 1,27$ (95% ДІ: 22,2–27,2) ммоль/л.

Дослідження параметрів білкового обміну показало, що на тлі розвитку ДГА-індукованого гострого гепатиту у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання вмісту сечовини в сироватці крові у 2,9 разу відносно показників інтактних щурів, що вказує на зниження детоксикуючої функції печінки, зокрема – знешкодження токсичних продуктів дезамінування амінокислот (табл. 13).

Таблиця 13

Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на показники сечовини та креатиніну в сироватці крові щурів на тлі D-галактозамінового гепатиту (M±m (95% ДІ), n=28)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ДГА	ДГА + КЕП	ДГА + Силібор
n	7	7	7	7
Сечовина, ммоль/л	$4,3 \pm 0,10$ (95% ДІ: 4,1–4,5)	$12,6 \pm 0,22$ (95% ДІ: 12,1–13,0) $p_{1-2} < 0,001$	$4,3 \pm 0,12$ (95% ДІ: 4,0–4,5) $p_{1-3} = 0,9$ $p_{2-3} < 0,001$	$5,0 \pm 0,16$ (95% ДІ: 4,7–5,3) $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$
Креатинін, мкмоль/л	$56,7 \pm 1,44$ (95% ДІ: 53,9–59,5)	$75,7 \pm 1,60$ (95% ДІ: 72,6–78,8) $p_{1-2} < 0,001$	$58,0 \pm 2,88$ (95% ДІ: 52,4–63,6) $p_{1-3} = 0,7$ $p_{2-3} < 0,001$	$66,3 \pm 2,30$ (95% ДІ: 61,8–70,8) $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,04$

Примітки:

- Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
- p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Крім того, встановлено порушення білоксинтезуючої активності печінки на тлі експериментального аналогу вірусного гепатиту людини, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження вмісту загального білка на 18,7% та зниження ($p < 0,001$) вмісту альбумінів на 41,5% відносно показників інтактних тварин (табл. 14).

Таблиця 14

Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на показники білкового гомеостазу в сироватці крові щурів на тлі D-галактозамінового гепатиту ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щери	ДГА	ДГА + КЕП	ДГА + Силібор
n	7	7	7	7
Загальний білок, г/л	72,7±3,11 (95% ДІ: 66,6–78,8)	59,1±1,84 (95% ДІ: 55,5–62,8) $p_{1-2} < 0,01$	69,4±2,44 (95% ДІ: 64,6–74,2) $p_{1-3} = 0,4$ $p_{2-3} < 0,01$	65,4±1,49 (95% ДІ: 62,5–68,4) $p_{1-4} = 0,06$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,19$
Альбуміни, г/л	41,0 [40,0; 43,5]	24,0 [20,0; 27,0] $p_{1-2} < 0,001$	40,0 [39,0; 43,0] $p_{1-3} = 0,26$ $p_{2-3} < 0,001$	40,0 [39,5; 40,5] $p_{1-4} = 0,13$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,37$
Глобуліни, г/л	32,0 [30,5; 35,0]	30,0 [26,5; 34,0] $p_{1-2} = 0,17$	35,0 [32,0; 35,0] $p_{1-3} = 0,4$ $p_{2-3} = 0,24$	28,0 [25,5; 30,5] $p_{1-4} = 0,04$ $p_{2-4} = 0,33$ $p_{3-4} = 0,08$

Примітки:

1. Індексми 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Встановлені порушення білкового обміну призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження альбумін-глобулінового співвідношення на 46,8% відносно аналогічного показника в інтактних тварин (рис 9).

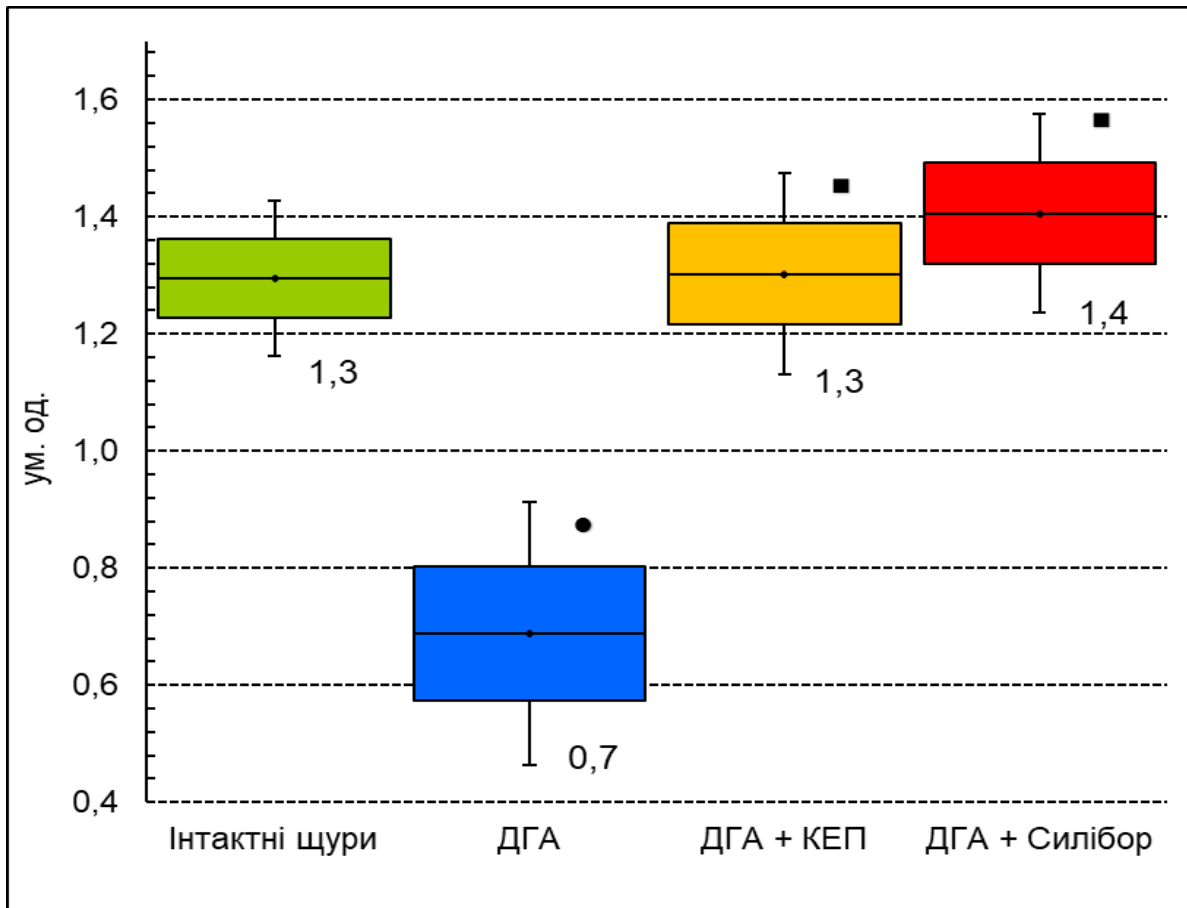


Рис. 9. Вплив КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення на значення співвідношення «альбуміни / глобуліни» в гомогенатах печінки на тлі D-галактозамінового гепатиту у щурів

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95% довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з D-галактозаміновим гепатитом.

2.3. Дослідження гепатозахисної дії КЕП при медикаментозних ураженнях печінки

Медикаментозні ураження печінки (МУП) є одними з найпоширеніших побічних ефектів ЛЗ, що пов'язано перш за все із фізіологічною роллю цього органу в елімінації ксенобіотиків, а також із широким розповсюдженням препаратів-дженериків, які не завжди мають достатню якість [9, 52]. На частку МУП припадає близько 10% від загальної кількості пацієнтів з хворобами печінки. Поширеність МУП у світі становить від 2,4 випадки на 100 тис. населення на рік у Великобританії до 34,2 випадки на 100 тис. населення на рік в Іспанії [4, 149]. Актуальність проблеми МУП підтверджується функціонуванням мережі, діяльність якої особливим чином сфокусована на контролі та попередженні розвитку уражень печінки, пов'язаних з ЛЗ, це зокрема база даних «Drug Induced Liver Injury Network» у системі Food and Drug Administration (USA), системі «LiverTox» (USA), системі «HepaTox» (Китай) та ін. [30, 124, 195].

Як відомо, у печінці відбувається метаболічна трансформація та подальша кон'югація та екскреція гідрофільних продуктів біотрансформації ЛЗ з жовчу та сечею. Серед ЛЗ, які найчастіше викликають розвиток МУП, найбільша питома вага припадає на нестероїдні протизапальні засоби (39%), антибактеріальні ЛЗ (29%), імуносупресанти (9%) та антиагреганти (7%), протидіабетичні (4%) та ін. (21%) [109]. Серед найчастіших причин летальних випадків у пацієнтів з МУП відмічено прийом парацетамолу, троглітазону, вальпроату, антибіотиків, протипухлинних засобів та ін. [22, 97, 173].

Парацетамол (син. ацетамінофен) є найуживанішим безрецептурним анальгетиком-антипіретиком у всьому світі [33, 74]. Актуальність застосування вказаного препарату особливо зросла в умовах пандемії нової вірусної інфекції COVID-19. Варто зазначити й те, що парацетамол частіше за інші лікарські препарати виступає складовою у комбінованих знеболюючих та протизапальних засобах – парацетамол+ібупрофен, парацетамол+диклофенак натрію, парацетамол+метамізол натрію та ін. Здатність парацетамолу зв'язуватись з мітохондріальними протеїнами гепатоцитів та цілою низкою ензимів (глутамінсинтетаза, глутаміндегідрогеназа,

карбоангідраза III, глутаматдегідрогеназа, гліцин-N-метилтрансфераза) ковалентними зв'язками виступає підґрунтям його гепатотоксичної дії [33, 74].

2.3.1 Характеристика гепатозахисної дії КЕП на моделі парацетамолового гепатиту

Гостре медикаментозне ураження печінки моделювали в/шл введенням парацетамолу в дозі 1250 мг/кг 1 раз на добу впродовж 2 діб [244]. Тварин виводили з експерименту через 72 год після другого введення. У якості референс-препарату в/о вводили похідне амінокислоти L-цистеїну – АЦЦ в дозі 150 мг/кг [235]. Дослідження показало, що моделювання парацетамол-індукованого гепатиту у щурів супроводжувалось зростанням ($p < 0,001$) вмісту ТБК-РП у гомогенатах печінки на 71,3% відносно показників інтактних щурів (табл. 15).

Таблиця 15

Вплив КЕП за лікувального режиму введення на біохімічні показники ПОЛ-АОС на тлі парацетамолового гепатиту у щурів ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Парацета- мол	Парацета- мол + КЕП	Парацета- мол + АЦЦ
n	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	9,4±0,68 (95% ДІ: 8,1-10,8)	16,1±1,03 (95% ДІ: 14,1-18,2) $p_{1-2} < 0,001$	9,3±1,48 (95% ДІ: 6,4-12,2) $p_{1-3} = 0,9$ $p_{2-3} < 0,01$	13,1±0,82 (95% ДІ: 11,5-14,7) $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} = 0,04$ $p_{3-4} = 0,04$
Каталаза, мкат/кг тканини	3,4±0,23 (95% ДІ: 3,0-3,9)	2,2±0,24 (95% ДІ: 1,7-2,7) $p_{1-2} < 0,01$	2,6±0,21 (95% ДІ: 2,2-3,1) $p_{1-3} = 0,03$ $p_{2-3} = 0,2$	3,5±0,29 (95% ДІ: 2,9-4,1) $p_{1-4} = 0,9$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,03$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Інтегральна оцінка стану прооксидантно-антиоксидантної системи у гомогенатах печінки показала, що на тлі парацетамол-індукованого гепатиту відмічається статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження значення АПІ на 62,2% (рис. 10).

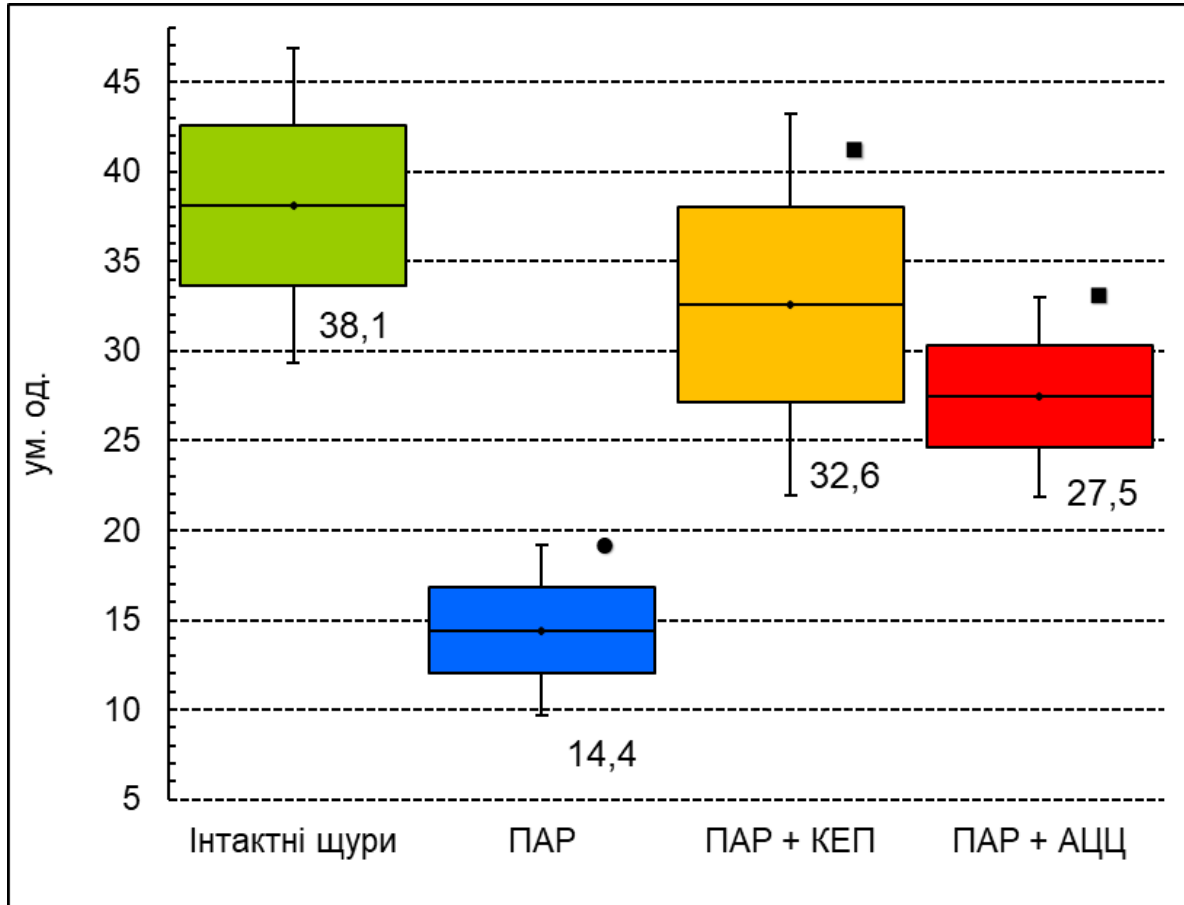


Рис. 10. Вплив КЕП за лікувального режиму введення на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки на тлі парацетамолового гепатиту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів - 95% довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу - середнє арифметичне значення.
4. ПАР - парацетамол.
5. ● - $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ - $p < 0,05$ відносно показників щурів з парацетамоловим гепатитом.

На тлі введення АЦЦ рівень ТБК-РП знизився ($p=0,04$) на 18,6%. Введення КЕП привело до нормалізації рівня ТБК-РП у гомогенатах печінки. Добре відомо, що АЦЦ проявляє антиоксидантні властивості, що зумовлено зв'язуванням його сульфгідрильними групами хімічних радикалів і, таким чином, знешкодженням їх. Крім того, АЦЦ сприяє підвищенню синтезу глутатіону – важливого фактора хімічної детоксикації. Ця особливість АЦЦ дає змогу ефективно застосовувати його при гострих отруєннях парацетамолом та іншими токсичними речовинами (альдегідами, фенолами та ін.) [235].

Оцінка активності АОС за рівнем каталази у гомогенатах печінки показала, що розвиток гострого парацетамолового гепатиту супроводжувався зниженням ($p<0,01$) активності каталази на 35,3% відносно показників інтактних щурів та становив відповідно $2,2\pm 0,24$ мкат/кг тканини. На тлі введення КЕП зазначений показник зріс ($p=0,03$) на 18,2%, а на тлі введення АЦЦ – зріс ($p<0,01$) на 59,1% відносно показників щурів з парацетамол-індукованим гепатитом (див. табл. 15).

Застосування КЕП, як і АЦЦ, привело до зростання ($p<0,01$) АПІ у 2,3 та 1,9 разу відповідно, і нівелювання статистично вірогідних відмінностей за цим показником з інтактними тваринами. Це вказує на здатність КЕП відновлювати баланс прооксидантно-антиоксидантної системи тканин печінки при медикаментозному її ушкодженні (див. рис. 10).

Оцінка активності амінотрансфераз у сироватці крові показала, що на тлі розвитку гострого парацетамол-індукованого гепатиту у щурів відмічалось статистично вірогідне ($p<0,001$) зростання активності АлАт у 2,1 разу, а також зростання ($p<0,001$) активності АсАт на 58,8% відносно показників інтактних щурів (табл. 16). Диспропорційне зростання активності амінотрансфераз призвело до статистично вірогідного ($p=0,02$) зниження коефіцієнта де Рітиса на 26,7% відносно значень у інтактних тварин (рис. 11). Застосування АЦЦ привело до рівномірного зниження активності АлАт та АсАт у сироватці крові щурів з

парацетамол-індукованим гепатитом відповідно на 28,0% ($p < 0,001$) та 25,9% ($p < 0,01$) відносно показників тварин без лікування, проте при цьому зберігався дисбаланс в активності амінотрансфераз, спричинений ураженням печінки, на що вказував статистично вірогідно ($p = 0,03$) нижчий на 26,7% коефіцієнт де Рітиса, який дорівнював значенню у нелікованих тварин та становив $1,1 \pm 0,09$ ум.од. На тлі застосування КЕП відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження активності АлАт та АсАт відповідно на 44,0% та 29,6% відносно показників тварин контрольної групи.

Таблиця 16

Вплив КЕП за лікувального режиму введення на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів на тлі парацетамолового гепатиту ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щери	Парацета- мол	Парацета- мол + КЕП	Парацета- мол + АЦЦ
n	7	7	7	7
АлАт, мкмоль / (мл × год)	$1,2 \pm 0,10$ (95% ДІ: 1,0-1,4)	$2,5 \pm 0,10$ (95% ДІ: 2,3-2,7) $p_{1-2} < 0,001$	$1,4 \pm 0,11$ (95% ДІ: 1,2-1,6) $p_{1-3} = 0,15$ $p_{2-3} < 0,001$	$1,8 \pm 0,06$ (95% ДІ: 1,7-1,9) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$
АсАт, мкмоль / (мл × год)	$1,7 \pm 0,11$ (95% ДІ: 1,5-1,9)	$2,7 \pm 0,13$ (95% ДІ: 2,4-2,9) $p_{1-2} < 0,001$	$1,9 \pm 0,10$ (95% ДІ: 1,7-2,1) $p_{1-3} = 0,24$ $p_{2-3} < 0,001$	$2,0 \pm 0,19$ (95% ДІ: 1,6-2,3) $p_{1-4} = 0,29$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,79$

Примітки:

- Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
- p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Варто відзначити, що на тлі застосування КЕП, на відміну від АЦЦ, відмічено статистично вірогідне ($p=0,01$) зростання на 27,3% значення коефіцієнта де Рітиса (див. рис. 11).

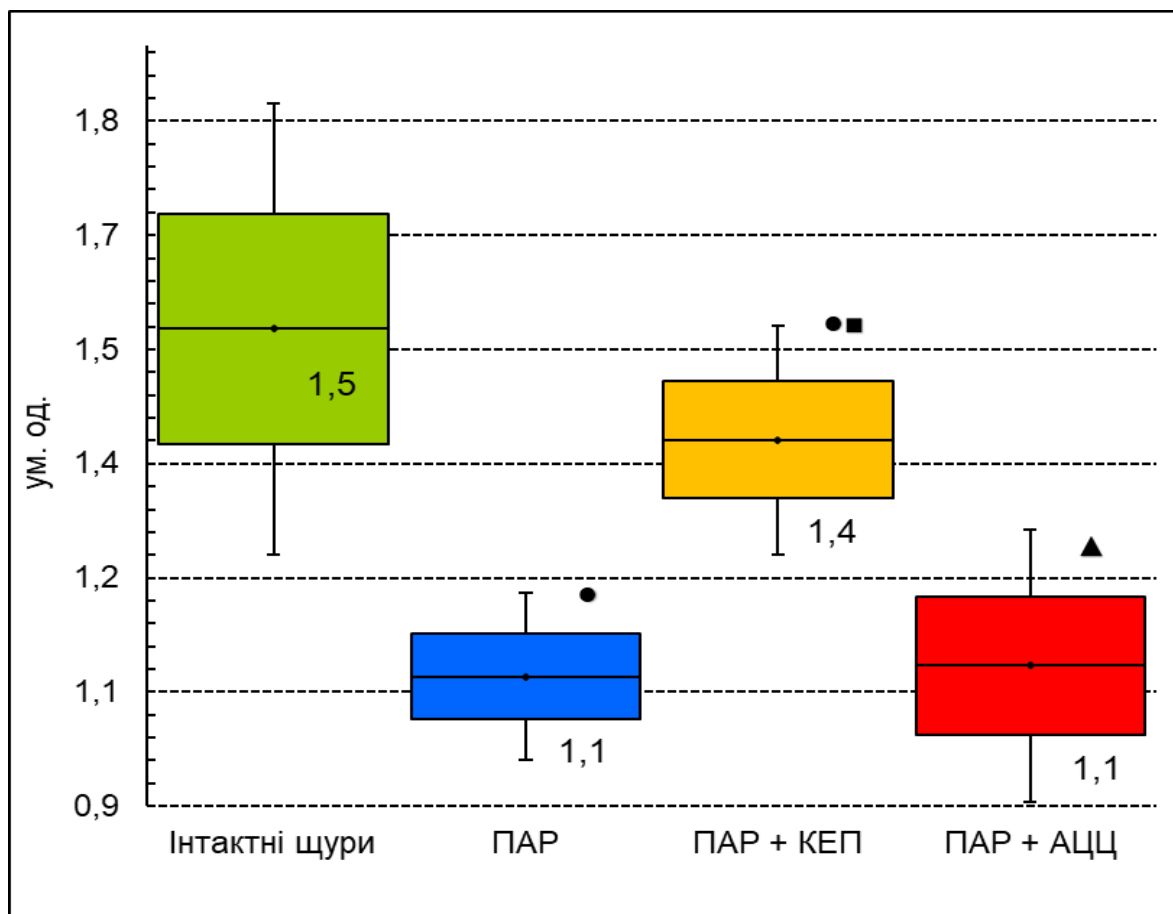


Рис. 11. Вплив КЕП за лікувального режиму введення на значення коефіцієнта де Рітиса (АсАт/АлАт) в гомогенатах печінки щурів на тлі парацетамолового гепатиту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів - 95% довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу - середнє арифметичне значення.
4. ПАР - парацетамол.
5. ● - $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ - $p < 0,05$ відносно показників щурів з парацетамоловим гепатитом;
7. ▲ - $p < 0,05$ відносно показників щурів з парацетамоловим гепатитом, яким вводили КЕП.

Дослідження показників пігментного обміну показали, що на тлі розвитку парацетамол-індукованого гепатиту у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання концентрації загального білірубіну у 4,2 разу відносно показників інтактних щурів (табл. 17).

Таблиця 17

Вплив КЕП за лікувального режиму введення на концентрацію білірубіну в сироватці крові щурів на тлі парацетамолового гепатиту ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=28$)

Досліджува- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Парацета- мол	Парацета- мол + КЕП	Парацета- мол + АЦЦ
n	7	7	7	7
Загальний білірубін, ммоль/л	14,4±0,84 (95% ДІ: 12,8–16,1)	61,1±2,20 (95% ДІ: 56,8–65,5) $p_{1-2} < 0,001$	50,1±0,80 (95% ДІ: 48,6–51,7) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	27,7±1,21 (95% ДІ: 25,3–30,1) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
Прямий білірубін, ммоль/л	5,3±0,36 (95% ДІ: 4,6–12,0)	14,1±0,63 (95% ДІ: 12,9–15,4) $p_{1-2} < 0,001$	6,7±0,42 (95% ДІ: 5,9–7,5) $p_{1-3} = 0,02$ $p_{2-3} < 0,001$	6,3±0,42 (95% ДІ: 5,5–7,1) $p_{1-4} = 0,10$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,48$
Непрямий білірубін, ммоль/л	9,1±0,70 (95% ДІ: 7,8–10,5)	47,0±1,80 (95% ДІ: 43,5–50,5) $p_{1-2} < 0,001$	43,4±0,95 (95% ДІ: 41,6–45,3) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,11$	21,4±1,00 (95% ДІ: 19,5–23,4) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Встановлене зростання відбувалось переважно за рахунок непрямого білірубину, який зріс ($p < 0,001$) у 5,2 разу, в той час як прямий білірубін зріс ($p < 0,001$) лише у 2,7 разу, відносно показників інтактних щурів. Зростання рівня загального білірубину за рахунок фракції непрямого білірубину вказує на розлади функціональної спроможності мембранозв'язаних транспортних систем, пов'язаних із захопленням непрямого білірубину [69].

За здатністю знижувати вміст прямого білірубину в сироватці крові щурів з парацетамоловим гепатитом досліджувані засоби були зіставляваними – рівень прямого білірубину статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 52,5% на тлі введення КЕП та статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 55,3% на тлі застосування АЦЦ (див. табл. 17). Концентрація загального білірубину зменшувалась на 54,7% у тварин групи, яким вводили АЦЦ та на 18,0% у щурів, яким вводили КЕП відносно тварин контрольної групи.

2.3.2 Оцінка гепатозахисної дії КЕП на моделі диклофенакнатрій-індукованого гепатиту

Проведене дослідження показало, що введення диклофенаку натрію (ДН) призвело до посилення процесів ПОЛ у тканинах печінки, на це вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) підвищення вмісту ТБК-РП у 2,3 разу відносно показників інтактних тварин (табл. 18). На тлі зростання вмісту ТБК-РП відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження активності каталази на 42,4%, що вказувало на виснаження компенсаторних можливостей АОС.

Вказані зміни призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження значення інтегрального показника стану ПОЛ-АОС – АПІ у 3,9 разу на тлі розвитку гострого ДН-індукованого гепатиту.

Вплив КЕП при терапевтичному режимі застосування на біохімічні показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в тканинах печінки при гепатиті, індукованому диклофенаком натрію ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ДН	ДН + КЕП	ДН + Силібор
n	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	8,0±0,49 (95% ДІ: 7,0-9,0)	18,1±0,82 (95% ДІ: 16,5-19,7) $p_{1-2}<0,001$	9,3±0,32 (95% ДІ: 8,6-9,9) $p_{1-3}<0,05$ $p_{2-3}<0,001$	10,7±0,53 (95% ДІ: 9,7-11,8) $p_{1-4}<0,01$ $p_{2-4}<0,001$ $p_{3-4} = 0,04$
Каталаза, мкат/кг тканини	3,3±0,24 (95% ДІ: 2,8-3,8)	1,9±0,17 (95% ДІ: 1,6-2,3) $p_{1-2}<0,001$	2,9±0,13 (95% ДІ: 2,7-3,2) $p_{1-3} = 0,22$ $p_{2-3}<0,001$	2,5±0,15 (95% ДІ: 2,2-2,8) $p_{1-4} = 0,02$ $p_{2-4} = 0,03$ $p_{3-4} = 0,06$
АПІ	42,0±4,2 (95% ДІ: 33,8-50,2)	10,7±0,9 (95% ДІ: 9,0-12,4) $p_{1-2}<0,001$	31,5±0,9 (95% ДІ: 29,8-33,3) $p_{1-3} = 0,03$ $p_{2-3}<0,001$	23,5±1,5 (95% ДІ: 20,6-26,4) $p_{1-4}<0,01$ $p_{2-4}<0,001$ $p_{3-4}<0,001$

Примітки:

- Індексом 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
- p_{2-1} - рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Біохімічні дослідження крові щурів показали, що паралельно до змін у системі ПОЛ-АОС, введення ДН привело до статистично вірогідного зростання активності амінотрансфераз у середньому на 28,8% відносно показників інтактних щурів (табл. 19), а також до зростання ($p < 0,001$) концентрації загального білірубіну у периферичній крові у 3,4 разу та становило відповідно $42,0 \pm 1,65$ ммоль/л.

Профілактичне п'ятиденне введення КЕП, аналогічно до референс-препарату силібору, нівелювало викликані ДН ознаки ураження печінки. Дослідження показало, що на тлі введення КЕП, вміст ТБК-РП знизився на 48,6% ($p < 0,001$), а на тлі введення силібору – знизився на 40,9% ($p < 0,001$). За здатністю відновлювати активність АОС силібор поступався КЕП – активність каталази у гомогенатах печінки тварин з ДН-індукованим гепатитом зросла на 52,6% ($p < 0,001$), та на 31,6% ($p = 0,03$) відповідно при введенні КЕП та при введенні силібору відносно показників нелікованих щурів (див. табл. 18). Наведені зміни з боку ПОЛ-АОС у тканинах печінки щурів з ДН-індукованим гепатитом узгоджувались зі зростанням ($p < 0,001$) значення АПІ у 2,9 та 2,2 разу відповідно при введенні КЕП та при введенні силібору відносно показників у тварин контрольної групи.

Разом із відновленням балансу у системі ПОЛ-АОС, застосування як КЕП, так і силібору, викликало ослаблення функціональних розладів, викликаних передозуванням ДН. На це вказувало зниження активності амінотрансфераз у периферичній крові та статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження концентрації загального білірубіну у 2,9 разу на тлі введення КЕП, та у 1,9 разу при введенні силібору відносно показників нелікованих щурів з ДН-індукованим гепатитом ($42,0 \pm 1,65$ ммоль/л) та становив $14,3 \pm 1,32$ ммоль/л та $22,0 \pm 0,93$ ммоль/л відповідно (див. табл. 19).

**Вплив КЕП за лікувального режиму введення
на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів на
тлі диклофенакнатрій -індукованого гепатиту
($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=28$)**

Досліджува- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ДН	ДН + КЕП	ДН + Силібор
n	7	7	7	7
АлАт, мкмоль / (мл × год)	1,3 [1,3; 1,6]	1,7 [1,6; 1,7] $p_{1-2} = 0,04$	1,2 [1,1; 1,4] $p_{1-3} = 0,14$ $p_{2-3} = 0,02$	1,4 [1,2; 1,7] $p_{1-4} = 0,47$ $p_{2-4} = 0,14$ $p_{3-4} = 0,26$
АсАт, мкмоль / (мл × год)	1,5 [1,4; 1,7]	1,9 [1,8; 2,1] $p_{1-2} < 0,01$	1,5 [1,5; 1,8] $p_{1-3} = 0,24$ $p_{2-3} = 0,01$	1,7 [1,5; 1,8] $p_{1-4} = 0,14$ $p_{2-4} = 0,03$ $p_{3-4} = 0,35$
Коефіцієнт де Рітиса (АсАт/АлАт)	1,0±0,18 (95 % ДІ: 0,6-1,4)	1,2±0,07 (95 % ДІ: 1,0-1,3) $p_{1-2} = 0,26$	1,3±0,14 (95 % ДІ: 1,0-1,6) $p_{1-3} = 0,13$ $p_{2-3} = 0,17$	1,2±0,08 (95 % ДІ: 1,1-1,4) $p_{1-4} = 0,17$ $p_{2-4} = 0,33$ $p_{3-4} = 0,45$
Загальний білірубін, ммоль/л	12,6±1,0 (95 % ДІ: 10,6-14,5)	42,0±1,65 (95 % ДІ: 38,8-45,2) $p_{1-2} < 0,001$	14,3±1,32 (95 % ДІ: 11,7-16,9) $p_{1-3} = 0,19$ $p_{2-3} < 0,001$	22,0±0,93 (95 % ДІ: 20,2-23,8) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,01$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} - рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

ДН є похідним фенілоцтової кислоти та популярним представником групи нестероїдних протизапальних засобів, який часто призначають при лихоманці, запаленні та помірних больових станах. Він також діє як антибактеріальний засіб, пригнічуючи синтез ДНК [7]. Вважається, що механізм дії ДН пов'язаний з інгібуванням простагландин-ендопероксидсинтази, також відомої як циклооксигеназа [3]. Печінка метаболізує ДН до 4-гідроксидиклофенаку та інших гідроксильованих похідних. Ці метаболіти проходять процес сульфатування та глюкуронізації перед тим, як остаточно виводяться з жовчю (35,0%) та сечею (65,0%) [62, 77, 159]. Отримані результати дослідження вказують на наявність виразного гепатозахисного ефекту у КЕП, який за виразністю є зіставляваним з дією референс-препарату силібору. Механізм гепатопротекторного ефекту досліджуваного кріоекстракту відповідав ключовим патогенетичним ланкам розвитку гострого ДН-індукованого гепатиту у щурів.

Встановлена індукована ДН антивація процесів ПОЛ у тканинах печінки цілком узгоджується з даними літератури. За даними [159] ДН та його реактивні метаболіти індукують ПОЛ та також пригнічують окисне фосфорилування та синтез АТФ у мітохондріях печінки щурів [77]. У той час як мітохондрії є основним місцем вироблення активних форм кисню в печінці, індукованого диклофенаком, утворення супероксид-аніону зростають і в інших тканинах [170].

Показане нами зниження вмісту ТБК-РП у тканинах печінки щурів з ДН-індукованим гепатитом під дією СЕР на 48,6% (див. табл. 18) вказує на його антиоксидантні властивості, які ймовірно, виступають одним із механізмів його гепатозахисної дії. Отримані дані про антиоксидантну активність КЕП узгоджуються з даним, які були раніше

продемонстровано у роботах [95]. Варто зазначити, що не менш важливим механізмом антиоксидантної активності виступає і активація каталазної активності у тканинах печінки, яка під дією КЕП зросла на 52,6%. За даними [62] зниження активності каталази під дією ДН зменшує здатність тканини печінки чинити опір окисному ураженню. Привертає увагу, що за здатністю модулювати стан ПОЛ-АОС КЕП вірогідно ($p < 0,001$) на 31,8% перевищував силібор - рівень АПІ зріс відносно показників нелікованих у 2,9 та 2,2 разу відповідно (див. табл. 18).

Оцінка впливу ДН на параметри сироватки крові, пов'язані з функцією печінки, показала значне підвищення печінкових ферментів, як і власне білірубіну, на тлі гострої інтоксикації ДН. Ці біохімічні зміни у щурів, яким вводили ДН, пов'язані з гістологічними змінами печінки, які за даними літератури [44, 68] включають гідропічну та вакуолярну дегенерацію гепатоцитів, інфільтрацію клітин запалення, вогнищевий некроз печінки, апоптоз, застій кровоносних судин і синусоїдів, жирові зміни, проліферацію клітин Купфера і гіперплазію епітелію, що вистилає жовчні каналці. Виразне зменшення ДН-індукованого зростання біохімічних маркерів ураження печінки у периферичній крові вказує на гепатозахисну дію досліджуваного кріоекстракту, в основі якого може виступати відновлення функціональної спроможності гепатоцитів за рахунок широкого спектра біологічно-активних компонентів КЕП.



РОЗДІЛ 3

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПРОТИВИРАЗКОВИХ ЗАСОБІВ ЗА ДОПОМОГОЮ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ

Проведено дослідження ефективності КЕП на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого (ЕТХМ) ураження печінки та його поєднання з ураженнями печінки противиразковими засобами – езомепразолом, кларитроміцином та метронідазолом (Е/К/М) за їх комбінованого застосування. ЕТХМ відтворювали шляхом в/шл введення 50,0% олійного розчину CCl_4 у дозі 8 мл/кг маси тіла тварини двічі на тиждень у комбінації з 5,0% розчином етанолу для пиття впродовж 45 днів [239, 244]. Після моделювання вивчали гепатотропні ефекти противиразкових засобів. Препарати потрібної терапії виразкової хвороби (езомепразол) у дозі 50 мг/кг, кларитроміцин (91 мг/кг) та метронідазол (91 мг/кг) [234]) вводили нарізно в/шл щоденно впродовж 7 днів.

3.1 Вплив КЕП на гепатотропні ефекти комбінованого застосування езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки

У проведених дослідженнях розвиток експериментального хронічного ЕТХМ супроводжувався активацією процесів ПОЛ, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) підвищення

вмісту ТБК-РП у 3 рази відносно показників інтактних щурів, при цьому не спостерігали статистично вірогідних змін активності каталази (табл. 20). Відповідно, порушувався прооксидантно-антиоксидантний баланс – АПІ статистично вірогідно ($p < 0,001$) знижувався на 80,1% відносно показників інтактних щурів (рис. 12). Семиденне комбіноване нарізне введення езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу щурам зі змодельованим ЕТХМ не викликало статистично значущого підвищення вмісту ТБК-РП у гомогенатах печінки (див. табл. 20), проте викликало значне пригнічення системи АОС на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження активності каталази на 38,4% та зниження АПІ на 27,7% ($p < 0,001$) відносно показників щурів з ЕТХМ (див. рис. 12).

Таблиця 20

Вплив КЕП та Е/К/М на показники ПОЛ-АОС в гомогенатах печінки на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у щурів ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щери	ЕТХМ	ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М
n	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	6,0±0,44 (95% ДІ: 5,1-6,9)	23,3±0,75 (95% ДІ: 21,8-24,7) $p_{1-2} < 0,001$	24,7±1,13 (95% ДІ: 22,5-26,9) $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,3$	10,1±0,51 (95% ДІ: 9,1-11,1) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
Каталаза, мкат/кг тканини	2,3±0,09 (95% ДІ: 2,1-2,4)	2,1±0,09 (95% ДІ: 1,9-2,2) $p_{1-2} < 0,11$	1,4±0,08 (95% ДІ: 1,2-1,6) $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	2,2±0,07 (95% ДІ: 2,0-2,3) $p_{1-4} = 0,19$ $p_{2-4} = 0,14$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки:

1. Індексими 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

На тлі комбінованого введення досліджуваного кріоекстракту та протокольних противиразкових препаратів відмічалася гармонізація стану ПОЛ-АОС. Так вміст ТБК-РП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знижувався на 62,6% відносно показників щурів, яким вводили тільки Е/К/М (див. табл. 20).

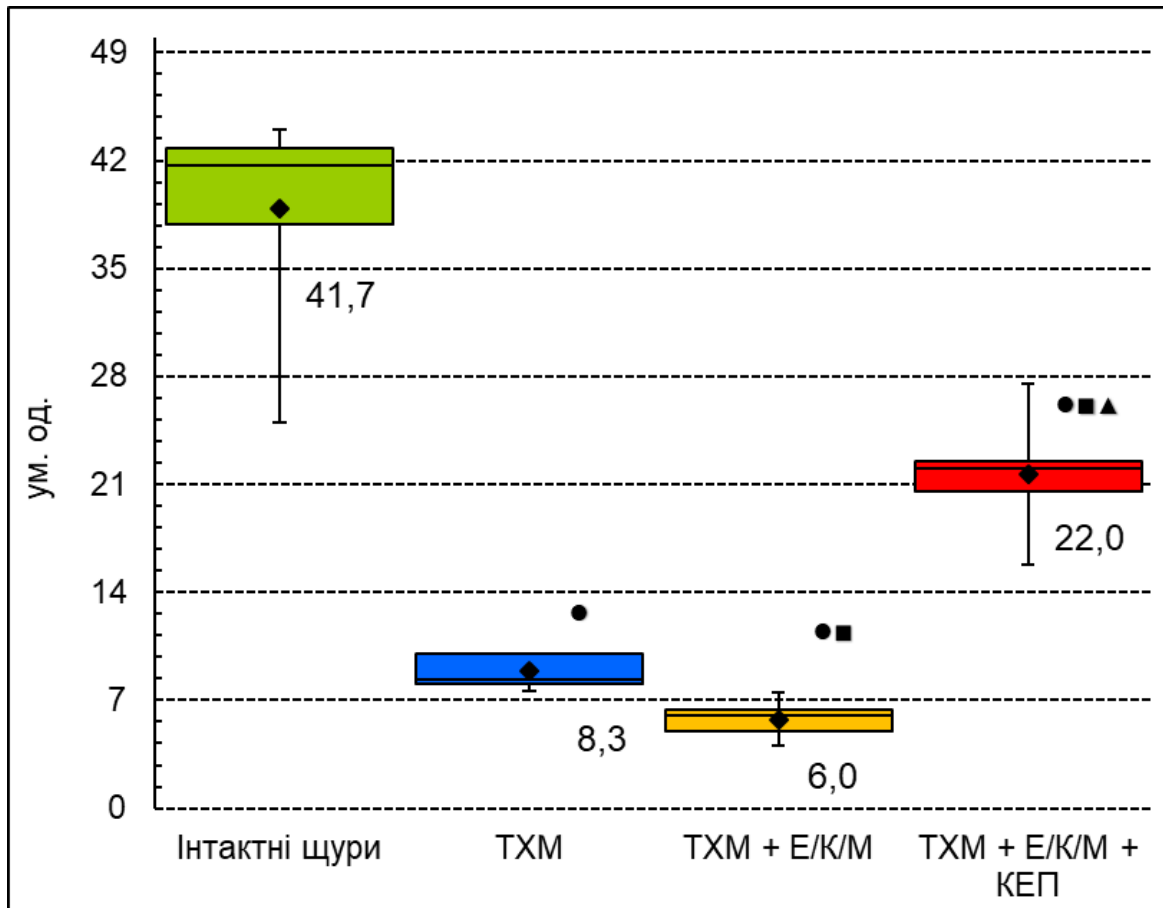


Рис. 12. Вплив КЕП та Е/К/М на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилію, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ♦ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з хронічним етанол-тетрахлорметановим ураженням печінки;
7. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з хронічним етанол-тетрахлорметановим ураженням печінки, яким вводили Е/К/М.

В той же час відмічалось зростання активності каталази в гомогенатах печінки до $2,2 \pm 0,07$ мкат/кг тканини, що зіставляно з показниками інтактних щурів ($2,3 \pm 0,09$ мкат/кг тканини). Варто відзначити, що інтегрований показник оцінки стану ПОЛ-АОС – АПІ, хоча й перевищував показник щурів з ЕТХМ у 2,7 разу ($p < 0,001$), проте залишався в 1,9 разу нижче ($p < 0,001$) за показники інтактних щурів (див. рис. 12).

Дослідження активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів показало, що на тлі розвитку ЕТХМ відмічено статистично вірогідне ($p < 0,01$) зростання активності АлАт та АсАт відповідно у 2,5 та у 3,5 разу відносно показників інтактних тварин (табл. 21).

Таблиця 21

Вплив КЕП та Е/К/М на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=28$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щери	ЕТХМ	ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М
n	7	7	7	7
АлАт, мкмоль / (мл × год)	$1,2 \pm 0,13$ (95% ДІ: 0,9-1,5)	$3,0 \pm 0,23$ (95% ДІ: 2,6-3,5) $p_{1-2} < 0,001$	$3,3 \pm 0,21$ (95% ДІ: 2,9-3,7) $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,37$	$2,1 \pm 0,22$ (95% ДІ: 1,7-2,5) $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,01$
АсАт, мкмоль / (мл × год)	1,7 [1,2; 1,9]	5,9 [3,9; 6,9] $p_{1-2} < 0,01$	6,1 [4,1; 6,6] $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,42$	3,0 [3,0; 3,2] $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} = 0,06$ $p_{3-4} < 0,01$

Примітки:

1. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Вказані зміни з боку активності амінотрансфераз на тлі розвитку ЕТХМ мало тенденцію до зростання коефіцієнта де Рітиса відносно показників інтактних тварин (рис. 13).

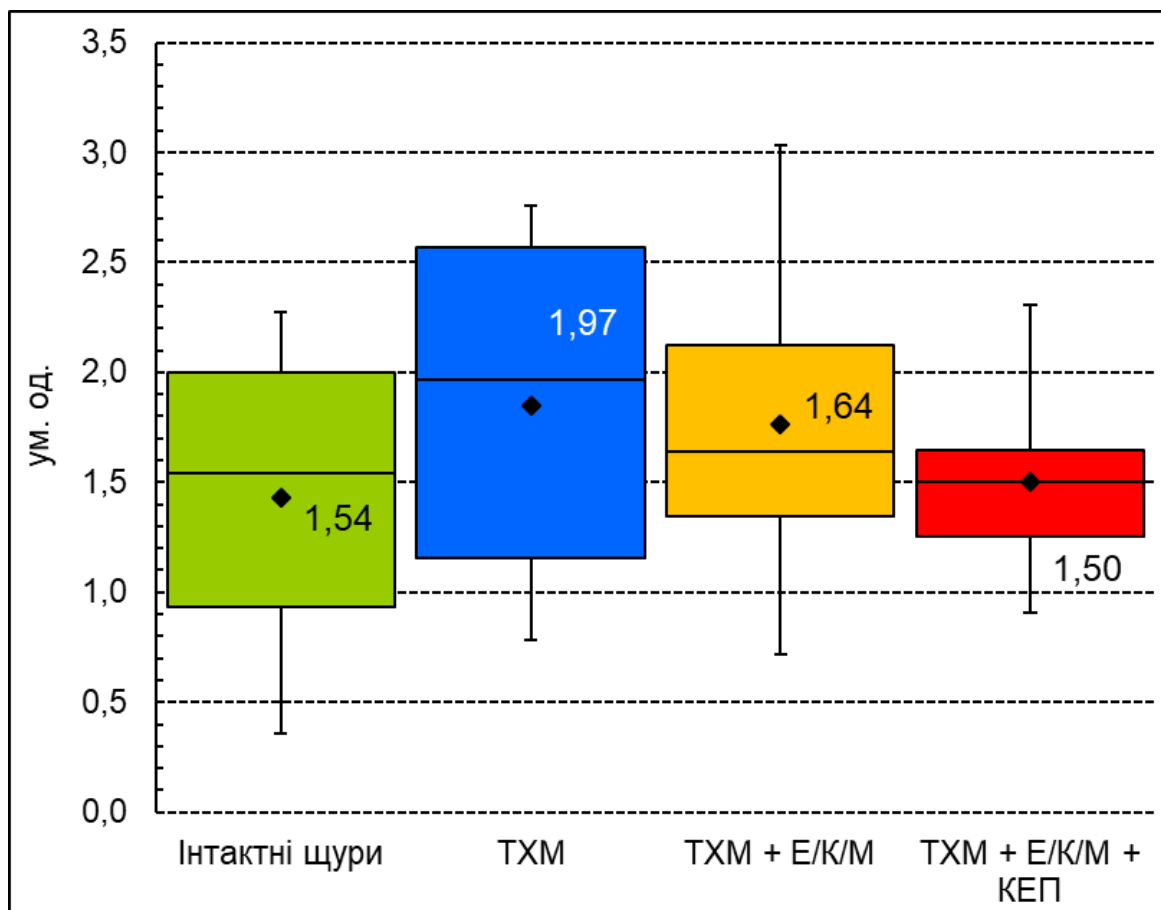


Рис. 13. Вплив КЕП та Е/К/М на значення коефіцієнта де Рітиса (АсАт / АлАт) в сироватці крові на тлі хронічного етанолтетрахлорметан-індукованого ураження печінки у щурів

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ♦ – середнє значення.

Введення КЕП привело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження активності АлАт та АсАт на 30,0% та 49,2%

відносно показників тварин з ЕТХМ (див. табл. 21). У тварин з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М та КЕП рівень АлАт був нижче на 36,4% ($p < 0,01$), а рівень АсАт був нижчим на 50,8% ($p < 0,01$) відносно показників тварин з ЕТХМ, яким вводили тільки Е/К/М (див. табл. 21)

На тлі розвитку ЕТХМ було відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня білірубіну у 3,4 разу відносно показників інтактних тварин (табл. 22). Вказане зростання концентрації загального білірубіну відбувалось переважно за рахунок пулу прямого білірубіну, вміст якого статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс у 6,4 разу на тлі розвитку ЕТХМ, порівняно з показниками інтактних щурів. Вміст непрямого білірубіну на тлі ЕТХМ зріс ($p = 0,03$) лише на 67,8% відносно показників інтактних тварин.

На тлі введення Е/К/М відмічено ще більше зростання концентрації загального білірубіну в сироватці крові щурів з ЕТХМ на 27,7%, відносно показників тварин з ураженням печінки, яким не вводили вказані противиразкові засоби (див. табл. 22). Особливо помітно введення Е/К/М відбивалося на вмісті непрямого білірубіну, який в 1,7 та 3 рази перевищував цей показник у групі 2 (ЕТХМ) і у групі інтактних тварин відповідно.

Введення КЕП привело до ослаблення гіпербілірубінемії, на що вказувало статистично вірогідне зниження ($p < 0,01$) концентрації загального білірубіну на 41,7% відносно показників тварин з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М, та на 25,5% ($p < 0,001$) відносно показників тварин з ЕТХМ.

Оцінка змін з боку фракцій білірубіну показала, що введення КЕП привело до зниження концентрації прямого білірубіну на 20,6% відносно показників тварин з ЕТХМ, та становила відповідно $27,3 \pm 1,71$ ммоль/л. Рівень непрямого білірубіну, в свою чергу, на тлі введення КЕП знизився ($p < 0,001$) на 35,8% відносно показників щурів з ЕТХМ, та на

64,1% відносно показників з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М (див. табл. 22).

Таблиця 22

Вплив КЕП та Е/К/М на концентрацію білірубін у сироватці крові щурів на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n=28)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	ЕТХМ	ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М
n	7	7	7	7
Загальний білірубін, ммоль/л	14,0 [13,5; 15,5]	47,0 [43,5; 57,5] $p_{1-2} < 0,001$	60,0 [53,0; 61,0] $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,07$	35,0 [34,0; 38,0] $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,01$ $p_{3-4} < 0,01$
Прямий білірубін, ммоль/л	5,4±0,90 (95% ДІ: 3,7–12,0)	34,4±2,72 (95% ДІ: 29,1–39,8) $p_{1-2} < 0,001$	30,6±1,21 (95% ДІ: 28,2–32,9) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,22$	27,3±1,71 (95% ДІ: 23,9–30,6) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} = 0,14$
Непрямий білірубін, ммоль/л	9,0±0,31 (95% ДІ: 8,4–9,6)	15,1±2,51 (95% ДІ: 10,2–20,1) $p_{1-2} = 0,03$	27,0±1,93 (95% ДІ: 23,2–30,8) $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} < 0,01$	9,7±0,57 (95% ДІ: 8,6–10,8) $p_{1-4} = 0,30$ $p_{2-4} = 0,05$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки:

- Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
- p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

3.2 Статеві відмінності та вплив гонадектомії на гепатопротекторну дію КЕП

Дослідження гепатопротекторної активності КЕП за різного вмісту статевих гормонів проведені на самцях та самицях щурів, розподілених на 4 групи:

- хибнооперовані щури обох статей, яким проводили замісну гормонотерапію (надлишкову);
- хибнооперовані щури обох статей без зміни гормонального статусу (група порівняння);
- щури обох статей, яким виконано тесектомію або оваріоектомію;
- щури обох статей, яким після гонадектомії проведено замісну гормонотерапію.

Модуляцію вмісту статевих гормонів досягали хірургічною оваріо- або тесектомією у самиць та самців щурів відповідно до загальноприйнятих методик [244]. Дослідження проводились через 21 день після гонадектомії [6, 76]. Некастрованим тваринам груп порівняння виконували розтин передньої черевної стінки та подальше ушивання рани (хибнооперовані тварини). Замісну та надлишкову гормонотерапію проводили впродовж 14 днів у самців – підшкірним (п/ш) введенням тестостерону пропіонату в дозі 1 мг/кг 1 р/д, а у самиць – в/шл введенням естрадіолу гемігідрату в дозі 150 мг/кг [5, 196].

За результатами досліджень впливу вмісту статевих гормонів на гепатотропні ефекти Е/К/М встановлено, що найвища активація процесів ПОЛ у хибнооперованих щурів без зміни гормонального статусу відмічалась у самиць, на що вказував на 44,8% вищий ($p=0,01$) рівень ТБК-РП відносно показників самців (табл. 23). Це вказує на більшу активацію процесів ПОЛ у печінці хибнооперованих самиць без зміни гормонального статусу на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М, що

узгоджується із даними літератури про більшу схильність жінок до розвитку медикаментозного ураження печінки [8, 48].

Комбіноване застосування Е/К/М та КЕП на тлі ЕТХМ як у самців, так і у самиць, приводило до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження вмісту ТБК-РП у гомогенатах печінки відповідно у 2,2 та 2,7 разу відносно щурів з ЕТХМ, яким вводили тільки Е/К/М (див. табл. 23). Ці дані вказують на здатність КЕП ослаблювати гепатотоксичну дію Е/К/М на тлі ЕТХМ у щурів без змін гормонального рівня як у самців, так і у самиць.

Найнижчий вміст ТБК-РП у гомогенатах печінки самиць щурів з ЕТХМ відмічався ($p < 0,01$ відносно самиць без зміни гормонального статусу) на тлі надлишкової гормонотерапії естрадіолу гемігідратом ($20,6 \pm 1,17$ мкмоль/кг тканини). Це може вказувати на захисну роль жіночих статевих гормонів при розвитку окисного стресу в тканинах печінки за ЕТХМ та введення Е/К/М та узгоджується із ефективністю досліджуваного кріоекстракту, адже до його складу входить ціла низка біологічно активних речовин із гормоноподібною дією.

Найбільша ж активація процесів ПОЛ відмічена у самиць, яким вводили CCl_4 та Е/К/М після оваріоектомії, у яких вміст ТБК-РП становив $36,1 \pm 2,79$ мкмоль/кг тканини. Комбіноване застосування Е/К/М та КЕП на тлі ЕТХМ нівелювало активацію процесів ПОЛ, на що вказував статистично вірогідно ($p < 0,001$) нижчий вміст ТБК-РП у гомогенатах печінки у 2,7 разу. За здатністю нівелювати ЕТХМ та Е/К/М-індуковану активацію ПОЛ КЕП проявляв зіставлявану ефективність як у самиць без зміни гормонального статусу, так і у кастрованих самиць (див. табл. 23).

Вплив КЕП та Е/К/М на вміст ТБК-РП у гомогенатах печінки на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, мкмоль/кг тканини ($M \pm m$ (95% ДІ), $n=112$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці		Самиці					
		♂ I група		♂ II група		♀ III група		♀ IV група	
		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	
n	7		7		7		7		
Без зміни гормонального статусу	а	22,0±2,20 (95% ДІ: 17,7–26,3)		10,1±1,62 (95% ДІ: 7,0–13,3)		31,9±2,60 (95% ДІ: 26,8–37,0)		11,7±2,41 (95% ДІ: 7,0–16,4)	
					$p_{1-2} < 0,001$		$p_{1-3} = 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$		$p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} = 0,60$ $p_{3-4} < 0,001$
Гормоноте- рапія	б	25,9±2,96 (95% ДІ: 20,0–31,7)		13,3±1,90 (95% ДІ: 9,6–17,0)		20,6±1,17 (95% ДІ: 18,3–22,9)		10,3±1,02 (95% ДІ: 8,3–12,3)	
		$p_{a-b} = 0,32$		$p_{a-b} = 0,23$	$p_{1-2} < 0,01$	$p_{a-b} < 0,01$	$p_{1-3} = 0,12$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-b} = 0,59$	$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,19$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія із замісною гор- монотерапією	в	20,3±2,21 (95% ДІ: 16,0–24,6)		9,7±1,19 (95% ДІ: 7,4–12,0)		33,9±1,28 (95% ДІ: 31,3–36,4)		12,9±1,12 (95% ДІ: 10,7–15,1)	
		$p_{a-b} = 0,59$ $p_{b-b} = 0,16$		$p_{a-b} = 0,14$ $p_{b-b} = 0,14$	$p_{1-2} < 0,01$	$p_{a-b} = 0,50$ $p_{b-b} < 0,001$	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-b} = 0,67$ $p_{b-b} = 0,12$	$p_{1-4} = 0,01$ $p_{2-4} = 0,08$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія	г	17,0±1,72 (95% ДІ: 13,6–20,4)		7,3±0,84 (95% ДІ: 5,6–8,9)		36,1±2,79 (95% ДІ: 30,7–41,6)		13,3±2,29 (95% ДІ: 8,8–17,8)	
		$p_{a-г} = 0,10$ $p_{b-г} = 0,02$ $p_{в-г} = 0,26$		$p_{a-г} = 0,14$ $p_{b-г} = 0,01$ $p_{в-г} = 0,12$	$p_{1-2} < 0,001$	$p_{a-г} = 0,28$ $p_{b-г} < 0,001$ $p_{в-г} = 0,47$	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-г} = 0,64$ $p_{b-г} = 0,25$ $p_{в-г} = 0,87$	$p_{1-4} = 0,22$ $p_{2-4} = 0,03$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки: Індексами 1,2,3,4 вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексами а,б,в,г вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Оцінка стану ПОЛ у гомогенатах печінки щурів-самців на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М показала, що найбільший вміст ТБК-РП відмічено у щурів на тлі надлишкового введення тестостерону пропіонату ($25,9 \pm 2,96$ мкмоль/кг тканини), а найнижчий – у кастрованих щурів-самців, що вказує на прооксидантну роль чоловічих статевих гормонів за вказаної модельної патології. Дослідження показало, що у щурів-самців КЕП меншою мірою проявляв здатність модулювати активацію ПОЛ у тканинах печінки на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М, а найвиразніша його антиоксидантна активність відмічена у щурів-самців після тесектомії – рівень ТБК-РП був нижчим на 57,1% ($p < 0,001$), відносно показників щурів-самців з ЕТХМ (див. табл. 24).

Оцінка активності каталази у тканинах печінки на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М показала, що у щурів-самців, яким вводили тестостерону пропіонат – активність зазначеного показника статистично вірогідно ($p < 0,01$) на 20,0% була нижчою за показники щурів без зміни гормонального статусу та становила відповідно $1,2 \pm 0,07$ мкат/кг тканини (див. табл. 24). Разом з тим встановлено, що у щурів-самців з ЕТХМ після тесектомії відзначався найвищий рівень активності каталази ($1,9 \pm 0,09$ мкат/кг тканини), що статистично вірогідно ($p < 0,01$) на 26,7% перевищувало показники тварин без зміни гормонального статусу ($1,5 \pm 0,06$ мкат/кг тканини). Відзначені зміни вказують на здатність надлишку чоловічих статевих гормонів пригнічувати АОС.

Введення КЕП щурам-самцям з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М, привело до підвищення активності каталази від 11,8% ($p = 0,09$) у кастрованих тварин до 53,4% ($p < 0,001$) у щурів-самців без зміни гормонального статусу (див. табл. 24). Варто зазначити, що у щурів-самців з ЕТХМ, яким вводили КЕП після тесектомії, відмічено найвищий рівень активності каталази, який статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 31,6% перевищував аналогічні показники тварин, яким не вводили КЕП, та на 8,6% ($p = 0,14$) перевищував показники тварин без зміни гормонального статусу.

Вплив КЕП та Е/К/М на активність каталази в гомогенатах печінки на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, мкат/кг тканини ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=112$)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці		Самиці	
		I група	II група	III група	IV група
		ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М
n		7	7	7	7
Без зміни гормонального статусу	а	1,5±0,06 (95% ДІ: 1,4 -1,5)	2,3±0,13 (95% ДІ: 2,0-2,5)	1,2±0,10 (95% ДІ: 1,0-1,4)	2,1±0,08 (95% ДІ: 2,0-2,2)
			$p_{1-2} < 0,001$	$p_{1-3} = 0,02$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,3$ $p_{3-4} < 0,001$
Гормоноте- рапія	б	1,2±0,07 (95% ДІ: 1,0-1,3)	1,8±0,12 (95% ДІ: 1,6-2,1)	1,5±0,11 (95% ДІ: 1,2-1,7)	2,3±0,13 (95% ДІ: 2,0-2,5)
		$p_{a-б} < 0,01$	$p_{a-б} = 0,03$ $p_{1-2} < 0,001$	$p_{a-б} = 0,07$ $p_{1-3} = 0,06$ $p_{2-3} = 0,06$	$p_{a-б} = 0,24$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,03$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія із замісною гор- монотерапією	в	1,7±0,08 (95% ДІ: 1,5-1,8)	1,9±0,07 (95% ДІ: 1,7-2,0)	0,9±0,07 (95% ДІ: 0,7-1,0)	2,0±0,07 (95% ДІ: 1,9-2,2)
		$p_{a-в} = 0,07$ $p_{б-в} < 0,001$	$p_{a-в} = 0,03$ $p_{б-в} = 0,70$ $p_{1-2} = 0,09$	$p_{a-в} = 0,04$ $p_{б-в} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-в} = 0,51$ $p_{б-в} = 0,13$ $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} = 0,2$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія	г	1,9±0,09 (95% ДІ: 1,7-2,0)	2,5±0,11 (95% ДІ: 2,3-2,7)	0,7±0,05 (95% ДІ: 0,6-0,8)	1,8±0,07 (95% ДІ: 1,6-1,9)
		$p_{a-г} < 0,01$ $p_{б-г} < 0,001$ $p_{в-г} = 0,14$	$p_{a-г} = 0,14$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} < 0,001$ $p_{1-2} < 0,001$	$p_{a-г} < 0,01$ $p_{б-г} < 0,001$ $p_{в-г} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-г} < 0,01$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} = 0,03$ $p_{1-4} = 0,38$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки: Індексами 1,2,3,4 вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексами а,б,в,г вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Аналіз активності каталази у гомогенатах печінки самиць щурів з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М показав, що найнижча активність досліджуваного показника відмічалась у самиць після оваріоектомії – активність каталази статистично вірогідно ($p < 0,01$) на 41,6% була нижчою відносно показників самиць без зміни гормонального статусу (див. табл. 24). Найвища активність каталази встановлена у самиць щурів з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М та проводили надлишкову гормонотерапію естрадіолу гемігідратом – активність каталази становила $1,5 \pm 0,11$ мкат/кг тканини, що на 25,0% перевищувало ($p = 0,07$) аналогічний показник у самиць без зміни гормонального статусу.

Встановлені антиоксидантні властивості жіночих статевих гормонів лежать в основі їх здатності стимулювати регенерацію печінки [180, 202]. Добре відомо, що печінка має унікальну здатність до регенерації, яка полягає у відновленні архітектури та маси органа за відносно короткий проміжок часу, навіть коли велика частина органа зруйнована [49, 202].

Застосування КЕП у самиць щурів з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М, привело до більш виразного, ніж у самців, підвищення активності каталази у гомогенатах печінки. Встановлено, що активність каталази на тлі введення КЕП найменше зросла у самиць, яким проводили надлишкову гормонотерапію – досліджуваний показник статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 53,4% відносно показників самиць, яким не вводили КЕП (див. табл. 24). У самиць без зміни гормонального статусу введення КЕП викликало зростання ($p < 0,001$) активності каталази на 75,0%, а найвиразніше вказаний показник збільшився у самиць після оваріоектомії – активність каталази статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла у 2,6 разу відносно показників самиць, яким КЕП не вводили.

Варто відзначити, що встановлене пригнічення активності каталази у гомогенатах печінки щурів-самиць узгоджувалось із даними літератури про більшу вразливість гепатобіліарної системи до гепатотоксичної дії ксенобіотиків саме у хворих жіночої статі [8, 69, 202].

Дослідження рівня ТБК-РП та активності каталази у гомогенатах печінки дозволили провести інтегральну оцінку стану ПОЛ-АОС за значенням АПІ. Встановлено, що у щурів без зміни гормонального статусу, розвиток ЕТХМ та введення Е/К/М привели до зниження АПІ у 1,9 разу більше ($p < 0,001$) у самиць, ніж у самців (табл. 25). Надлишкова гормонотерапія призвела до більш виразного зниження АПІ у самців, ніж у самиць, та мали різну направленість змін відносно показників у тварин без зміни гормонального статусу. Так, у щурів-самців з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М та тестостерону пропіонат, рівень АПІ статистично вірогідно ($p = 0,02$) знизився на 36,2%, в той час як у самиць щурів введення естрадіолу гемігідрату призвело до статистично вірогідного ($p = 0,01$) зростання значення АПІ у 2,1 разу відносно показників тварин без зміни гормонального статусу. Варто зазначити, що у щурів-самців з ЕТХМ після тестектомії та введення Е/К/М, відмічено найвище значення АПІ (10,0 [9,4; 12,0]), що вказує на прооксидантні властивості чоловічих статевих гормонів.

Введення КЕП призвело до зростання АПІ як у самців, так і у самиць, проте у самиць відмічене більш виразне зростання вказаного показника. Так у самиць щурів без зміни гормонального статусу з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М та КЕП, рівень АПІ статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс у 8,5 разу відносно показників тварин, яким КЕП не вводили, в той час як у щурів-самців без зміни гормонального статусу аналогічний показник зріс на тлі введення КЕП лише у 4,2 разу. У щурів самиць з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М та КЕП, встановлено зіставляване статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання АПІ як після гонадектомії, так і на тлі проведення замісної гормонотерапії – досліджуваний показник зріс у 5,7 та 5,8 разу відповідно (див. табл. 25). В той же час у щурів-самців з ЕТХМ та введенням Е/К/М застосування КЕП приводило до більш виразного зростання АПІ після тестектомії, ніж після тестектомії із замісною гормонотерапією, відповідно АПІ зріс у 3,6 ($p < 0,01$) та 2,4 разу ($p < 0,001$) відносно показників самців, яким КЕП не вводили (див. табл. 25).

Вплив КЕП та Е/К/М на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, (M±m (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n=112)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці				Самиці			
		І група		ІІ група		ІІІ група		ІV група	
		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	
n	7		7		7		7		
Без зміни гормонального статусу	а	6,3 [5,7; 7,8]		26,3 [16,4; 3,6]		3,4 [2,8; 3,9]		26,3 [13,3; 27,1]	
					p ₁₋₂ <0,001		p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,01 p ₂₋₄ =0,19 p ₃₋₄ <0,001
Гормоноте- рапія	б	5,0±0,77 (95% ДІ: 3,5–6,5)		15,7±2,71 (95% ДІ: 10,4–21,0)		7,2±0,50 (95% ДІ: 6,2–8,2)		24,0±3,52 (95% ДІ: 17,1–30,9)	
		p _{а-б} =0,02		p _{а-б} =0,07	p ₁₋₂ <0,01	p _{а-б} =0,01	p ₁₋₃ =0,04 p ₂₋₃ =0,02	p _{а-б} =0,24	p ₁₋₄ <0,01 p ₂₋₄ =0,09 p ₃₋₄ <0,01
Гонадектомія із замісною гор- монотерапією	в	8,2 [7,6; 8,9]		20,0 [15,4; 24,2]		2,6 [2,6; 2,9]		15,0 [14,0; 16,9]	
		p _{а-в} =0,11 p _{б-в} =0,01		p _{а-в} =0,48 p _{б-в} =0,20	p ₁₋₂ <0,01	p _{а-в} =0,02 p _{б-в} <0,001	p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001	p _{а-в} =0,28 p _{б-в} <0,05	p ₁₋₄ <0,01 p ₂₋₄ =0,13 p ₃₋₄ <0,001
Гонадектомія	г	10,0 [9,4; 12,0]		36,3 [27,8; 45,0]		2,2 [1,4; 2,5]		12,5 [9,5; 20,4]	
		p _{а-г} <0,01 p _{б-г} <0,01 p _{в-г} =0,03		p _{а-г} =0,06 p _{б-г} <0,001 p _{в-г} =0,01	p ₁₋₂ <0,001	p _{а-г} <0,01 p _{б-г} <0,001 p _{в-г} =0,06	p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ <0,001	p _{а-г} =0,11 p _{б-г} <0,05 p _{в-г} =0,20	p ₁₋₄ =0,22 p ₂₋₄ <0,01 p ₃₋₄ <0,001

Примітки: Індексами 1,2,3,4 вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексами а,б,в,г вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Відомо, що розвиток гепатиту, індукованого введенням CCl_4 , супроводжується зниженням рівня загального білка (ЗБ) у периферичній крові, що зумовлено порушенням білоксинтезуючої функції печінки [233]. Дослідження показали, що розвиток ЕТХМ та введення Е/К/М призвели до більшого ($p=0,03$) на 10,8% зниження рівня ЗБ у самиць, ніж у самців без зміни гормонального статусу (табл. 26). Введення тестостерону пропіонату призвело до статистично вірогідно ($p<0,01$) більшого на 12,2% зниження рівня ЗБ у щурів-самців з ЕТХМ на тлі введення Е/К/М, в той час як у самців після тестектомії рівень ЗБ на 11,0% був вищим за показники щурів без зміни гормонального статусу (див. табл. 26). Варто зазначити, що оваріоектомія у самиць щурів з ЕТХМ на тлі введення Е/К/М, на відміну від наслідків кастрації у самців, призвела до зниження рівня ЗБ ($p=0,01$) у периферичній крові на 11,6% відносно самиць щурів без зміни гормонального статусу.

Введення КЕП привело до статистично вірогідного ($p<0,001$) зростання рівня ЗБ на 30,8% у самців та на 33,9% у самиць без зміни гормонального статусу на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М (див. табл. 26). Привертає увагу, що найменше зростання рівня ЗБ та тлі введення КЕП, відмічено у самиць, яким вводили надлишково естрадіолу гемігідрат, що узгоджувалось із найвищим рівнем досліджуваного показника у самиць щурів, яким КЕП не вводили, $54,1\pm 1,30$ г/л та $70,4\pm 1,32$ г/л відповідно. Ці дані вказують на захисну дію жіночих статевих гормонів при токсичних ураженнях печінки.

У свою чергу у щурів-самців з ЕТХМ та введенням Е/К/М на тлі надлишкового введення тестостерону пропіонату та КЕП встановлено найвиразніше статистично вірогідне ($p<0,001$) зростання рівня ЗБ, в той час як у щурів-самців, яким КЕП не вводили, відмічався найнижчий рівень ЗБ, який становив $47,9\pm 1,56$ г/л (див. табл. 26).

Отримані дані вказують на здатність КЕП відновлювати білоксинтезуючу функцію печінки як у самців, так і у самиць щурів на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М.

Вплив КЕП та Е/К/М вміст загального білка в сироватці крові на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, г/л ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=112$)

Досліджува- ний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці				Самиці			
		I група		II група		III група		IV група	
		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	
n	7		7		7		7		
Без зміни гормонального статусу	а	54,6±1,72 (95% ДІ: 51,2–57,9)		71,4±1,86 (95% ДІ: 67,8–75,1)		49,3±1,38 (95% ДІ: 46,6–52,0)		66,0±1,91 (95% ДІ: 62,2–69,8)	
					$p_{1-2} < 0,001$		$p_{1-3} = 0,03$ $p_{2-3} < 0,001$		$p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} = 0,6$ $p_{3-4} < 0,001$
Гормоноте- рапія	б	47,9±1,56 (95% ДІ: 44,8–50,9)		65,9±2,60 (95% ДІ: 60,8–71,0)		54,1±1,30 (95% ДІ: 51,6–56,7)		70,4±1,32 (95% ДІ: 57,8–73,0)	
		$p_{a-б} = 0,01$		$p_{a-б} = 0,11$	$p_{1-2} < 0,001$	$p_{a-б} = 0,02$	$p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,01$	$p_{a-б} = 0,08$	$p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,14$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія із замісною гор- монотерапією	в	58,3±2,01 (95% ДІ: 54,3–62,2)		73,7±3,03 (95% ДІ: 67,8–79,7)		45,6±1,60 (95% ДІ: 42,4–48,7)		62,4±1,19 (95% ДІ: 60,1–64,8)	
		$p_{a-в} = 0,19$ $p_{б-в} < 0,01$		$p_{a-в} = 0,53$ $p_{б-в} = 0,07$	$p_{1-2} < 0,01$	$p_{a-в} = 0,1$ $p_{б-в} < 0,01$	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-в} = 0,14$ $p_{б-в} < 0,001$	$p_{1-4} = 0,1$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія	г	60,6±3,84 (95% ДІ: 53,1–68,1)		74,6±6,19 (95% ДІ: 62,4–86,7)		43,6±1,32 (95% ДІ: 41,0–46,2)		58,7±2,86 (95% ДІ: 53,1–64,6)	
		$p_{a-г} = 0,18$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} = 0,61$		$p_{a-г} = 0,64$ $p_{б-г} = 0,22$ $p_{в-г} = 0,90$	$p_{1-2} = 0,08$	$p_{a-г} = 0,01$ $p_{б-г} < 0,001$ $p_{в-г} = 0,35$	$p_{1-3} = 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-г} = 0,16$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} = 0,25$	$p_{1-4} = 0,70$ $p_{2-4} = 0,04$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки: Індексами 1,2,3,4 вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексами а,б,в,г вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

З метою оцінки деструктивних процесів у тканинах печінки проведено дослідження активності ЛФ у периферичній крові, адже як відомо вказаний ензим міститься, зокрема, у стінках жовчних протоків печінки та відображає їх цілісність. Встановлено що на тлі розвитку ЕТХМ та введення Е/К/М, відмічалось зіставлюване підвищення рівня ЛФ у периферичній крові як у самців, так і у самиць, та становили відповідно 4,8 мкмоль/л та 5,3 мкмоль/л (табл. 27).

У щурів-самців найвищий рівень активності ЛФ відмічено на тлі надлишкового введення тестостерону пропіонату (5,0 [5,0; 5,9] мкмоль/л), а найнижчий рівень відмічався у щурів після тесектомії та становив 3,8 [2,5; 4,7] мкмоль/л, що статистично вірогідно ($p < 0,05$) на 20,8% було нижче, ніж у щурів-самців без зміни гормонального статусу (див. табл. 27). Отримані дані вказують на здатність чоловічих статевих гормонів посилювати деструктивні процеси, зокрема у печінці.

Дослідження показало, що у самиць на тлі розвитку ЕТХМ та введення Е/К/М найвищий рівень ЛФ відмічено після оваріоектомії - 5,8 [5,1; 6,2] мкмоль/л, що на 9,4% перевищувало показники у щурів без зміни гормонального статусу.

Введення КЕП супроводжувалось виразним зниженням рівня ЛФ у щурів обох статей. Найвиразніше зниження рівня ЛФ відмічене у самиць з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М, естрадіолу гемігідрат та КЕП - вказаний показник статистично вірогідно ($p < 0,001$) зменшився на 60,8% відносно показників самиць щурів, яким КЕП не вводили (див. табл. 27). Найменше зниження рівня ЛФ серед самиць на тлі введення КЕП відмічене після оваріоектомії відносно показників тварин, яким кріоекстракт не вводили, та становило 39,7% ($p < 0,001$).

У щурів-самців рівень ЛФ на тлі ЕТХМ, введення Е/К/М та КЕП знижувався від 40,0% на тлі надлишкової гормонотерапії до 47,4% на тлі гонадектомії (в середньому на 44,9%) відносно показників щурів, яким КЕП не вводили (див. табл. 27).

Вплив КЕП та Е/К/М на активність лужної фосфатази в сироватці крові на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, мкмоль/л ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n=112)

Досліджуван- ний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці				Самиці			
		I група		II група		III група		IV група	
		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М		ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	
n	7		7		7		7		
Без зміни гормонального статусу	а	4,8±0,10 (95% ДІ: 4,6-5,0)		2,6±0,09 (95% ДІ: 2,4-2,7)		5,3±0,27 (95% ДІ: 4,8-5,8)		2,7±0,12 (95% ДІ: 2,4-2,9)	
					p ₁₋₂ <0,001		p ₁₋₃ =0,10 p ₂₋₃ <0,001		p ₁₋₄ <0,01 p ₂₋₄ =0,51 p ₃₋₄ <0,001
Гормоноте- рапія	б	5,0 [5,0; 5,9]		3,0 [2,5; 3,4]		5,1 [4,5; 5,3]		2,0 [1,8; 2,7]	
		p _{a-б} =0,03		p _{a-б} =0,08	p ₁₋₂ <0,01	p _{a-б} =0,26	p ₁₋₃ =0,14 p ₂₋₃ <0,01	p _{a-б} =0,06	p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ =0,02 p ₃₋₄ <0,001
Гонадектомія із замісною гор- монотерапією	в	4,1±0,23 (95% ДІ: 3,7-4,6)		2,2±0,14 (95% ДІ: 1,9-2,5)		5,2±0,15 (95% ДІ: 4,9-5,5)		3,1±0,11 (95% ДІ: 2,9-3,3)	
		p _{a-в} =0,02 p _{б-в} <0,01		p _{a-в} =0,03 p _{б-в} <0,01	p ₁₋₂ <0,001	p _{a-в} =0,68 p _{б-в} =0,31	p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₃ <0,001	p _{a-в} =0,01 p _{б-в} <0,01	p ₁₋₄ <0,01 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001
Гонадектомія	г	3,8 [2,5; 4,7]		2,0 [1,7; 2,5]		5,8 [5,1; 6,2]		3,5 [3,5; 3,7]	
		p _{a-г} <0,05 p _{б-г} <0,01 p _{в-г} =0,33		p _{a-г} =0,09 p _{б-г} =0,02 p _{в-г} =0,42	p ₁₋₂ <0,01	p _{a-г} =0,24 p _{б-г} =0,03 p _{в-г} =0,08	p ₁₋₃ =0,01 p ₂₋₃ <0,001	p _{a-г} <0,001 p _{б-г} <0,001 p _{в-г} =0,01	p ₁₋₄ =0,40 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001

Примітки: Індексми 1,2,3,4 вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексми а,б,в,г вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Дослідження вмісту білірубіну показало, що у тварин без зміни гормонального статусу на тлі розвитку ЕТХМ та введення Е/К/М, відмічався статистично вірогідно ($p = 0,01$) вищий на 27,6% рівень білірубіну у щурів-самиць, ніж у самців, та становив $78,7 \pm 4,5$ ммоль/л (табл. 28). Ці дані вказують на виразнішу функціональну недостатність печінки у самиць, порівняно з самцями при розвитку ЕТХМ, що узгоджується з даними літератури щодо гендерних розбіжностей у клінічних проявах гепатиту та цирозу печінки у хворих.

На тлі введення естрадіолу гемігідрату в дозі 150 мг/кг (група «надлишкової» гормонотерапії) самицям з ЕТХМ та введенням Е/К/М встановлено статистично вірогідне ($p = 0,01$) зниження рівня білірубіну на 18,7% відносно показників щурів-самиць без зміни гормонального статусу, та становив відповідно $64,0 \pm 2,4$ ммоль/л (див. табл. 28). Встановлені гепатопротекторні властивості жіночих статевих гормонів можуть бути пов'язані із їх здатністю стимулювати регенерацію печінки [202]. Добре відомо, що печінка має унікальну здатність до регенерації, яка полягає у відновленні архітектури та маси органу за відносно короткий проміжок часу, навіть коли велика частина органу зруйнована [180].

Вплив КЕП та Е/К/М на вміст білірубину на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, ммоль/л ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=112$)

Досліджуван-ний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці		Самиці	
		I група	II група	III група	IV група
		ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М
n		7	7	7	7
Без зміни гормонального статусу	а	61,7±2,71 (95 % ДІ: 56,4-67,0)	35,1±5,10 (95 % ДІ: 25,2-45,1)	78,7±4,51 (95 % ДІ: 69,9-57,6)	57,1±3,13 (95 % ДІ: 51,0-63,3)
			$p_{1-2} < 0,001$	$p_{1-3} = 0,01$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{1-4} = 0,29$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} < 0,01$
Гормоноте-рапія	б	67,6±1,76 (95 % ДІ: 64,2-71,0)	41,6±4,72 (95 % ДІ: 32,3-50,8)	64,0±2,38 (95 % ДІ: 59,3-68,7)	60,1±3,17 (95 % ДІ: 53,9-66,3)
		$p_{a-б} = 0,09$	$p_{a-б} = 0,37$ $p_{1-2} < 0,001$	$p_{a-б} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,25$ $p_{2-3} < 0,01$	$p_{a-б} = 0,51$ $p_{1-4} = 0,06$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,35$
Гонадектомія із замісною гор-монотерапією	в	60,0 [55,0; 67,5]	30,0 [27,0; 38,5]	82,0 [80,0; 74,5]	55,0 [50,5; 60,0]
		$p_{a-в} = 0,72$ $p_{б-в} = 0,13$	$p_{a-в} = 0,72$ $p_{б-в} = 0,18$ $p_{1-2} < 0,01$	$p_{a-в} = 0,33$ $p_{б-в} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-в} = 0,49$ $p_{б-в} = 0,22$ $p_{1-4} = 0,15$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} < 0,001$
Гонадектомія	г	51,6±4,92 (95 % ДІ: 41,9-61,2)	31,1±3,59 (95 % ДІ: 24,1-38,2)	86,3±4,27 (95 % ДІ: 77,0-95,5)	50,3±6,41 (95 % ДІ: 37,7-62,9)
		$p_{a-г} = 0,10$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} = 0,23$	$p_{a-г} = 0,53$ $p_{б-г} = 0,10$ $p_{в-г} = 0,78$ $p_{1-2} < 0,01$	$p_{a-г} = 0,14$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} = 0,30$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-г} = 0,36$ $p_{б-г} = 0,19$ $p_{в-г} = 0,69$ $p_{1-4} = 0,88$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки: Індексами $1,2,3,4$ вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексами $a, б, в, г$ вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p_{1-2} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Варто відзначити, що «надлишкова гормонотерапія» тестостерону пропіонатом у самців призвела до протилежних змін з боку функціональної активності печінки при ЕТХМ та введенні Е/К/М – рівень білірубіну зріс на 9,6% ($p = 0,09$). Загальна оцінка впливу рівня гормональної забезпеченості у щурів-самців на гепатотоксичність противиразкової терапії на тлі ЕТХМ показала, що найнижчий рівень білірубіну відмічено у кастрованих щурів-самців – $51,6 \pm 4,9$ (95% ДІ: 41,9–61,2) ммоль/л, а найвищий рівень білірубіну, і, відповідно, найбільші розлади у функціональній спроможності – у щурів-самців, яким проводили надлишкову гормонотерапію тестостерону пропіонатом (див. табл. 28).

Оцінка впливу естрогенної забезпеченості у щурів самиць показала, що найвиразніші ознаки гепатотоксичної дії Е/К/М на тлі ЕТХМ відмічені у кастрованих щурів-самиць – рівень білірубіну в гомогенатах печінки становив $86,3 \pm 4,3$ (95% ДІ: 77,0–95,5) ммоль/л. Дослідження впливу введення КЕП на гепатотоксичність Е/К/М на тлі ЕТХМ показало, що досліджуваний кріоекстракт чинить виразну гепатозахисну дію у тварин обох статей, що проявлялось зниженням рівня білірубіну. Показано, що найбільше зниження вмісту білірубіну відзначене у кастрованих щурів-самиць з ЕТХМ, яким вводили КЕП – рівень білірубліну статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 41,7% та становив $50,3 \pm 6,4$ (95 % ДІ: 37,7–62,9) ммоль/л (див табл. 28).

У щурів-самців без зміни гормонального статусу з ЕТХМ та супутнім введенням Е/К/М застосування КЕП привело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження вмісту білірубіну на 43,1% відносно тварин, яким КЕП не вводили, та становив відповідно $35,1 \pm 5,1$ ммоль/л. Варто зазначити, що у щурів-самців без зміни гормонального статусу зі змодельованим ураженням печінки та введенням противиразкових препаратів, терапія КЕП була ефективнішою, ніж у щурів-самиць, на це вказувало більше у 1,6 разу зниження вмісту білірубіну у щурів-самців, відповідно на 43,1% та 27,4% відносно показників щурів, яким КЕП не вводили (див. табл. 28).

Дослідження активності γ -ГТП у щурів показало, що розвиток ЕТХМ та введення Е/К/М супроводжувалось формуванням цитолітичного синдрому, на це вказувало зростання рівня зазначеного ензиму від $7,1 \pm 0,51$ Од/л у самців до $13,9 \pm 1,34$ Од/л у самиць, що узгоджувалось із даними літератури, про більшу вразливість гепатобіліарної системи до гепатотоксичної дії ксенобіотиків саме у хворих жіночої статі [8]. Як відомо, γ -ГТП – переважно мембранозв'язаний глікопротеїн, який каталізує перенесення амінокислот через мембрану, регулює розпад та кон'югацію глутатіону. Цей фермент зустрічається у більшості тканин ссавців, проте є специфічним саме для печінкової тканини. За даними літератури відомо, що активність γ -ГТП підвищується при гострому та токсичному гепатитах, та виступає високочутливим індикатором руйнування клітин печінки [69].

У щурів-самців проведення надлишкової гормонотерапії тестостерону пропіонатом, як і кастрація з подальшою замісною гормонотерапією, не викликала суттєвих змін в інтенсивності процесів цитолізу у тканинах печінки (табл. 29). В той же час, проведення тестектомії у щурів-самців без замісної гормонотерапії призводило до зниження активності γ -ГТП ($p = 0,1$) на 23,3% відносно показників тварин без зміни гормонального статусу, та становила відповідно $7,9 \pm 1,01$ (95% ДІ: 5,9–9,8) Од/л. Аналіз активності цитолітичних процесів у щурів-самців з ЕТХМ та введенням Е/К/М на тлі застосування КЕП показав, що доповнення лікування вказаним кріоекстрактом привело до зниження ($p = 0,09$) на 20,0% активності γ -ГТП у групі тварин, яким надлишково вводили тестостерону пропіонат. У кастрованих же самців введення КЕП супроводжувалось зниженням активності досліджуваного маркера цитолізу на 9,9% ($p = 0,3$) (див. табл. 29).

Вплив КЕП та Е/К/М на вміст γ -ГТП на тлі хронічного етанол-тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у самців і самиць щурів, Од/л ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=112$)

Досліджуваний показник, одиниці вимір.	№ групи	Самці		Самиці					
		I група	II група	III група		IV група			
		ЕТХМ + Е/К/М	ЕТХМ + КЕП + Е/К/М	ЕТХМ + Е/К/М		ЕТХМ + КЕП + Е/К/М			
n		7	7	7	7	7	7		
Без зміни гормонального статусу	а	10,3 \pm 1,36 (95 % ДІ: 7,6–12,9)		7,1 \pm 0,51 (95 % ДІ: 6,1–8,1)		13,9 \pm 1,34 (95 % ДІ: 11,2–16,5)		9,1 \pm 0,55 (95 % ДІ: 8,1–10,2)	
					$p_{1-2} = 0,05$		$p_{1-3} = 0,09$ $p_{2-3} < 0,001$		$p_{1-4} = 0,45$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} < 0,01$
Гормонотерапія	б	10,0 [8,5; 12,5]		8,0 [7,0; 9,5]		8,0 [8,0; 11,0]		9,0 [6,5; 10,5]	
		$p_{a-б} = 0,35$		$p_{a-б} = 0,17$	$p_{1-2} = 0,06$	$p_{a-б} = 0,02$	$p_{1-3} = 0,19$ $p_{2-3} = 0,24$	$p_{a-б} = 0,42$	$p_{1-4} = 0,19$ $p_{2-4} = 0,37$ $p_{3-4} = 0,40$
Гонадектомія із замісною гормонотерапією	в	9,0 \pm 1,31 (95 % ДІ: 6,4–11,6)		6,1 \pm 0,80 (95 % ДІ: 4,6–7,7)		14,9 \pm 2,29 (95 % ДІ: 10,4–19,4)		11,3 \pm 1,63 (95 % ДІ: 8,1–14,5)	
		$p_{a-в} = 0,26$ $p_{б-в} = 0,11$		$p_{a-в} = 0,11$ $p_{б-в} < 0,05$	$p_{1-2} = 0,09$	$p_{a-в} = 0,40$ $p_{б-в} = 0,04$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,01$	$p_{a-в} = 0,11$ $p_{б-в} = 0,11$	$p_{1-4} = 0,30$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} = 0,23$
Гонадектомія	г	7,9 \pm 1,01 (95 % ДІ: 5,9–9,8)		6,4 \pm 1,15 (95 % ДІ: 4,2–8,7)		17,9 \pm 1,56 (95 % ДІ: 14,8–20,9)		9,7 \pm 1,41 (95 % ДІ: 7,0–12,5)	
		$p_{a-г} = 0,11$ $p_{б-г} = 0,06$ $p_{в-г} = 0,30$		$p_{a-г} = 0,15$ $p_{б-г} = 0,07$ $p_{в-г} = 0,45$	$p_{1-2} = 0,37$	$p_{a-г} = 0,04$ $p_{б-г} < 0,01$ $p_{в-г} = 0,20$	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$p_{a-г} = 0,30$ $p_{б-г} = 0,24$ $p_{в-г} = 0,28$	$p_{1-4} = 0,31$ $p_{2-4} = 0,10$ $p_{3-4} < 0,01$

Примітки: Індексами 1,2,3,4 вказано номер групи залежно від досліджуваних препаратів, між показниками яких проведено порівняння; Індексами а,б,в,г вказано номер групи залежно від гормонального статусу, між показниками яких проведено порівняння; p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Оцінка інтенсивності цитолізу гепатоцитів у самиць показала, що у тварин, яким вводили КЕП, рівень γ -ГТП у гомогенатах печінки статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижчим на 34,5% відносно показників тварин з ЕТХМ, яким вводили тільки Е/К/М, та становив відповідно $9,1 \pm 0,55$ (95% ДІ: 8,1–10,2) Од/л (див. табл. 29). Надлишкове введення самицям естрадіолу гемігідрату чинило виразну антицитолітичну дію на гепатоцити, на що вказувало статистично вірогідне ($p = 0,02$) зниження активності γ -ГТП на 42,4% відносно показників самиць без зміни гормонального статусу, та становила відповідно 8,0 [8,0; 11,0] Од/л. Наявність антицитолітичного впливу естрадіолу гемігідрату підтверджувалась підвищенням рівня γ -ГТП у самиць з ЕТХМ після оваріоектомії на тлі введення Е/К/М у 2,2 разу відносно показників самиць при надлишковому введенні естрадіолу гемігідрату, відповідно – 17,8 Од/л та 8,0 Од/л (див. табл. 29).

Введення КЕП самицям щурів з ЕТХМ після оваріоектомії на тлі введення Е/К/М викликало статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження інтенсивності цитолітичних процесів, на що вказувало зниження рівня γ -ГТП на 45,8% відносно показників самиць, яким не вводили досліджуваний кріоекстракт. Наявність антицитолітичної активності у КЕП узгоджується з аналогічної активністю естрадіолу гемігідрату, оскільки фрагменти вказаного гормону входять до складу досліджуваного кріоекстракту та є одними з його фізіологічно активних складових. Крім того, встановлені зміни можна пов'язати зі здатністю КЕП нормалізувати гормональний статус у самиць щурів.



РОЗДІЛ 4

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ГЕПАТИТУ

Аутоімунний гепатит (АІГ) у щурів моделювали шляхом введення щурам гепатотропної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ; *Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної печінки [91, 210].

Гомогенат тканини печінки готували з дотриманням правил асептики за стандартною методикою підготовки тканинних антигенів [66]. Фрагменти печінки подрібнювали ножицями та відмивали від крові у холодному 0,9 % розчині NaCl, після чого розтирали у ступці з кварцевим піском. Гомогенну масу переносили у колбу, розчиняли ізотонічним розчином у співвідношенні 1:2, перемішували пропусканням триразово через шприц та відстоювали при -4°C близько 20 годин. Надосадну рідину центрифугували протягом 30 хв при 3000 об./хв при -4°C . У надосадній рідині визначали вміст білка та доводили його концентрацію до 80 мг на 1 мл гомогенату. Стандартизований за вмістом білка гомогенат печінки змішували з ПАФ у співвідношенні 1:1 та «переганяли» з шприця у шприц через перехідник до

загуснення, щоб крапля отриманої емульсії не руйнувалась у воді протягом 30 хв [208].

Гепатотропну антигенну суміш вводили щурам в/м по 2,0 мл 1 раз на тиждень впродовж 6 тижнів (1-й, 7-й, 14-й, 21-й, 28-й та 35-й дні експерименту) [91].

Досліджувані препарати починали вводити через 7 днів після останньої ін'єкції гепатотропної антигенної суміші [91]. Безклітинні препарати вводили в/м, з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту. В якості референс-препарату обрано гепатопротектор силібор («Силібор 35», ТОВ «Фармацевтична компанія "Здоров`я"», Україна) – рослинний екстракт з насіння розторопші плямистої (*Silybum marianum*). Силібор вводили в/шл на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в дозі 50 мг/кг [249].

Дослідження ефективності КЕП, КЕС та КС-МСК при АІГ проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

- I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;
- II – щури зі змодельованим АІГ (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг;
- III – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в/шл вводили референс-препарат силібор у дозі 50 мг/кг [249];
- IV – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [251];
- V – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [249];

VI – щури зі змодельованим АІГ (n=7), яким на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг.

На 52-й день тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним CHCl_3 «рауш-наркозом», відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові та екстирпували печінку для подальших досліджень. Цитофлюориметричні дослідження проведені для виявлення ефективності КЕП, КЕС та КС-МСК при АІГ у щурів. Протокову ДНК-цитометрію виконували на багатофункціональному проточному цитометрі «Partec PAS» (Partec, Німеччина).

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

Для екстракції ядер додавали 250 мкл розчину РНКазі з концентрацією 500 Од/мл у ФСБ з 1,12% цитрату натрію. Суміш обережно перемішували на вортексі та інкубували при $+37^\circ\text{C}$ протягом 30 хв. До нуклеарної суспензії додавали 250 мкл розчину пропідію йодиду в концентрації 50 мг/мл, інкубували за кімнатної температури 1 год. у темряві та проводили цитофлюориметричні дослідження у каналі FL3 (650 нм) для детекції флюоресценції пропідію йодиду [243] при швидкості потоку (менше 400 подій/секунду) для оптимальної роздільної здатності флюоресценції [88]. З кожного зразка ядерної суспензії здійснювався аналіз 10 тис. подій [246].

ДНК-гістограми розподілу клітин за фазами клітинного циклу інтерпретували за інтервалами флюоресценції (інтервал [SUB-G0] (апоптоз); інтервал [G0– G1]; інтервал [G2–M] та S (табл. 30)) [42] та розраховували інтегральний показник – проліферативний індекс, який розраховували за формулою [123]:

$$\Pi = \frac{S + [G2-M]}{S + [G2-M] + [G0-G1]}$$

Таблиця 30

Характеристика фаз клітинного циклу

Клітинний цикл	Період	Фаза	Характеристика [88, 123]	Плоїдність ДНК, n [42]	Ум. од. флюоресценції [11]
-	-	-	Апоптоз	<n	20-150
Фаза спокою	Кінцева диференціація	G0	Ріст клітини (без поділу)	n	150-250
Інтерфаза	Пресинтетичний	G1			
	Синтетичний	S	Редуплікація ДНК	1-2n	250-350
	Постсинтетичний	G2	Підготовка до мітозу та мітоз	2n	350-450
Мітоз		M			

4.1 Вплив КЕП, КЕС та КС-МСК на порушення пігментного обміну при АІГ

Оцінка стану пігментного обміну показала, що на тлі розвитку АІГ у щурів відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня загального білірубіну у крові на 148,9% відносно показників інтактних щурів, що становило 33,4 ммоль/л (табл. 31). Зростання загального білірубіну у тварин групи контролю відбувалось переважно за рахунок пулу прямого білірубіну – його концентрація статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла на 240,0% та становила 17,0 ммоль/л, в той час як вміст непрямого білірубіну зріс ($p < 0,001$) лише на 98,3% відносно показників інтактних щурів (див. табл. 31).

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на концентрацію білірубіну в сироватці крові щурів з АІГ на 52 день експерименту, ммоль/л ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджу- ваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щери	Контроль (АІГ без лікування)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальний білірубін, ммоль/л	13,4±0,69 (95 % ДІ: 12,1–14,8)	33,4±1,67 (95 % ДІ: 30,1–36,7) $p_1 < 0,001$ [148,9%]	19,7±0,84 (95 % ДІ: 18,1–21,4) $p_2 < 0,001$ [41,0%]	16,9±0,86 (95 % ДІ: 15,2–18,5) $p_2 < 0,001$ [49,6%] $p_3 < 0,05$ [14,5%]	20,0±1,23 (95 % ДІ: 17,6–22,4) $p_2 < 0,001$ [40,2%] $p_3 = 0,9$ [2,7%]	15,9±0,96 (95 % ДІ: 14,0–17,7) $p_2 < 0,001$ [52,6%] $p_3 < 0,05$ [19,6%]
Прямий білірубін, ммоль/л	5,0 [4,0; 6,0]	17,0 [14,5; 19,5] $p_1 < 0,001$ [240,0%]	9,0 [8,0; 9,0] $p_2 < 0,001$ [47,1%]	8,0 [7,5; 9,5] $p_2 < 0,01$ [52,9%] $p_3 = 0,37$ [11,1%]	10,0 [9,0; 11,5] $p_2 < 0,01$ [41,2%] $p_3 = 0,03$ [11,1%]	7,0 [5,5; 8,5] $p_2 < 0,001$ [58,8%] $p_3 < 0,05$ [22,2%]
Непрямий білірубін, ммоль/л	8,3±0,57 (95 % ДІ: 7,2–9,4)	16,4±1,13 (95 % ДІ: 14,2–18,6) $p_1 < 0,001$ [98,3%]	11,1±0,88 (95 % ДІ: 9,4–12,9) $p_2 < 0,01$ [32,2%]	8,3±0,97 (95 % ДІ: 6,4–10,2) $p_2 < 0,001$ [49,6%] $p_3 = 0,1$ [25,6%]	9,9±1,28 (95 % ДІ: 7,3–12,4) $p_2 < 0,01$ [40,0%] $p_3 = 0,4$ [21,9%]	8,9±1,06 (95 % ДІ: 6,8–10,9) $p_2 < 0,001$ [46,1%] $p_3 = 0,1$ [20,5%]

Примітки:

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

Підвищення рівня білірубіну класифікують як пряму (кон'юговану) гіпербілірубінемію та непряму (некон'юговану) гіпербілірубінемію [78, 198]. Виявлене нами підвищення рівня білірубіну та його фракцій на тлі АІГ у щурів належить до прямої гіпербілірубінемії, оскільки відбувається переважно за рахунок прямого білірубіну. Як відомо, гемоліз є найчастішою причиною прямої гіпербілірубінемії, за якою слідує синдром Жильбера. З іншого боку, пряма гіпербілірубінемія вказує на патологію печінки, включаючи холестатичну реакцію на ліки, аутоімунне холестатичне захворювання та обструкцію жовчних шляхів [78, 198].

Застосування референс-препарату силібору нівелювало порушення пігментного обміну, індуковані розвитком АІГ у щурів. Встановлено, що рівень загального білірубіну у щурів з АІГ, яким вводили силібор, статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 41,0% був нижчим за показники тварин з АІГ без лікування (див. табл. 31).

Серед досліджуваних препаратів введення КЕС супроводжувалось зіставлюваною з силібором здатністю нормалізувати рівень загального білірубіну у щурів з АІГ. Рівень вказаного показника статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 40,2% та становив 20,0 ммоль/л. В той же час введення КЕС поступалось за здатністю нормалізувати пігментний обмін іншими засобами (див. табл. 31).

КЕП та КС-МСК перевищували за здатністю нормалізувати пігментний обмін у щурів з АІГ як КЕС, так і референс-препарат силібор. Так, на тлі введення КЕП рівень загального білірубіну у щурів з АІГ статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 49,6%, а на тлі введення КС-МСК – статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 52,6% відносно показників щурів контрольної групи, та становив відповідно 16,9 ммоль/л та 15,9 ммоль/л (див. табл. 31).

Варто зазначити, що на тлі застосування КС-МСК відмічена тенденцію до відновлення пропорційного співвідношення прямого та непрямого білірубіну. Так, на тлі введення КС-МСК співвідношення прямий:непрямий білірубін

становило 1:1,3; на тлі введення силібору – 1:1,2; в той час як на тлі введення досліджуваних кріоекстрактів аналогічні співвідношення залишались незмінними та становили 1:1, як і у тварин контрольної групи (1:1), в той час як у інтактних тварин аналогічне співвідношення дорівнювало 1:1,7.

Таким чином, за здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АІГ досліджувані біологічні препарати можна розташувати у такій послідовності (за % зниження загального білірубіну відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (52,6%; $p < 0,001$) > КЕП (49,6%; $p < 0,001$) > КЕС (40,2%; $p < 0,001$).

4.2 Цитолітичні процеси у печінці щурів з АІГ на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Дослідження показало, що розвиток АІГ у щурів супроводжувався формуванням цитолітичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне зростання рівня АІАт на 66,7% ($p = 0,015$) та зростання рівня АсАт на 85,0% ($p < 0,001$) в сироватці периферичної крові відносно аналогічних показників інтактних тварин (табл. 32). Вказане диспропорційне зростання рівня амінотрансфераз у щурів з АІГ призвело до зниження значення коефіцієнта де Рітиса на 20,0% відносно значень у здорових щурів (рис. 14).

Також встановлено, що розвиток АІГ у щурів супроводжувався статистично вірогідним ($p = 0,002$) зростанням на 52,3% активності γ -ГТП (рис. 15) та зростанням ($p = 0,01$) на 36,5% активності ЛФ (рис. 16). Як відомо, γ -ГТП є ферментом, зв'язаним із плазматичною мембраною, який бере участь у γ -глутаміловому циклі, подібно до метаболізму глутатіону. Цей фермент відіграє важливу роль у захисті клітин від окиснювального стресу, тому його перевіряють як ключовий біомаркер для кількох захворювань, зокрема при пошкодженнях печінки [199]. Зміни з боку амінотрансфераз, γ -ГТП та ЛФ вірогідно вказують на формування цитолітичного синдрому на тлі АІГ.

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів з АІГ на 52-й день експерименту, мкмоль / (мл × год), (M ± m (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджу- ваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікування)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
АлАт, мкмоль / (мл × год)	1,2 [0,8; 1,8]	2,0 [1,7; 2,2] p ₁ =0,015 [66,7%]	1,4 [1,2; 1,5] p ₂ =0,002 [30,0%]	1,3 [0,8; 1,8] p ₂ =0,015 [35,0%] p ₃ =0,5 [7,1%]	1,5 [1,3; 1,7] p ₂ =0,015 [25,0%] p ₃ =0,3 [7,1%]	1,3 [1,2; 1,5] p ₂ =0,003 [35,0%] p ₃ =0,4 [7,1%]
АсАт, мкмоль / (мл × год)	1,6±0,13 (95 % ДІ: 1,4-1,9)	3,0±0,21 (95 % ДІ: 2,6-3,4) p ₁ <0,001 [85,0%]	2,0±0,18 (95 % ДІ: 1,6-2,3) p ₂ =0,003 [34,0%]	2,1±0,09 (95 % ДІ: 1,9-2,2) p ₂ =0,002 [31,3%] p ₃ =0,7 [4,3%]	2,0±0,23 (95 % ДІ: 1,6-2,5) p ₂ =0,01 [31,6%] p ₃ =0,8 [3,6%]	1,5±0,13 (95 % ДІ: 1,3-1,8) p ₂ <0,001 [49,3%] p ₃ =0,6 [23,2%]

Примітки:

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

Застосування референс-препарату силібору привело до нівелювання ознак цитолітичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне зниження рівня амінотрансфераз (див. табл. 32) – рівень АлАт статистично вірогідно ($p=0,002$) знизився на 30,0%, відносно показників щурів контрольної групи, та становив 1,4 [1,2; 1,5] мкмоль / (мл × год), а рівень АсАТ – статистично вірогідно ($p=0,003$) знизився на 34,0% відносно показників нелікованих щурів з АІГ, та становив відповідно $2,0 \pm 0,18$ (92% ДІ: 1,6–2,3) мкмоль / (мл × год).

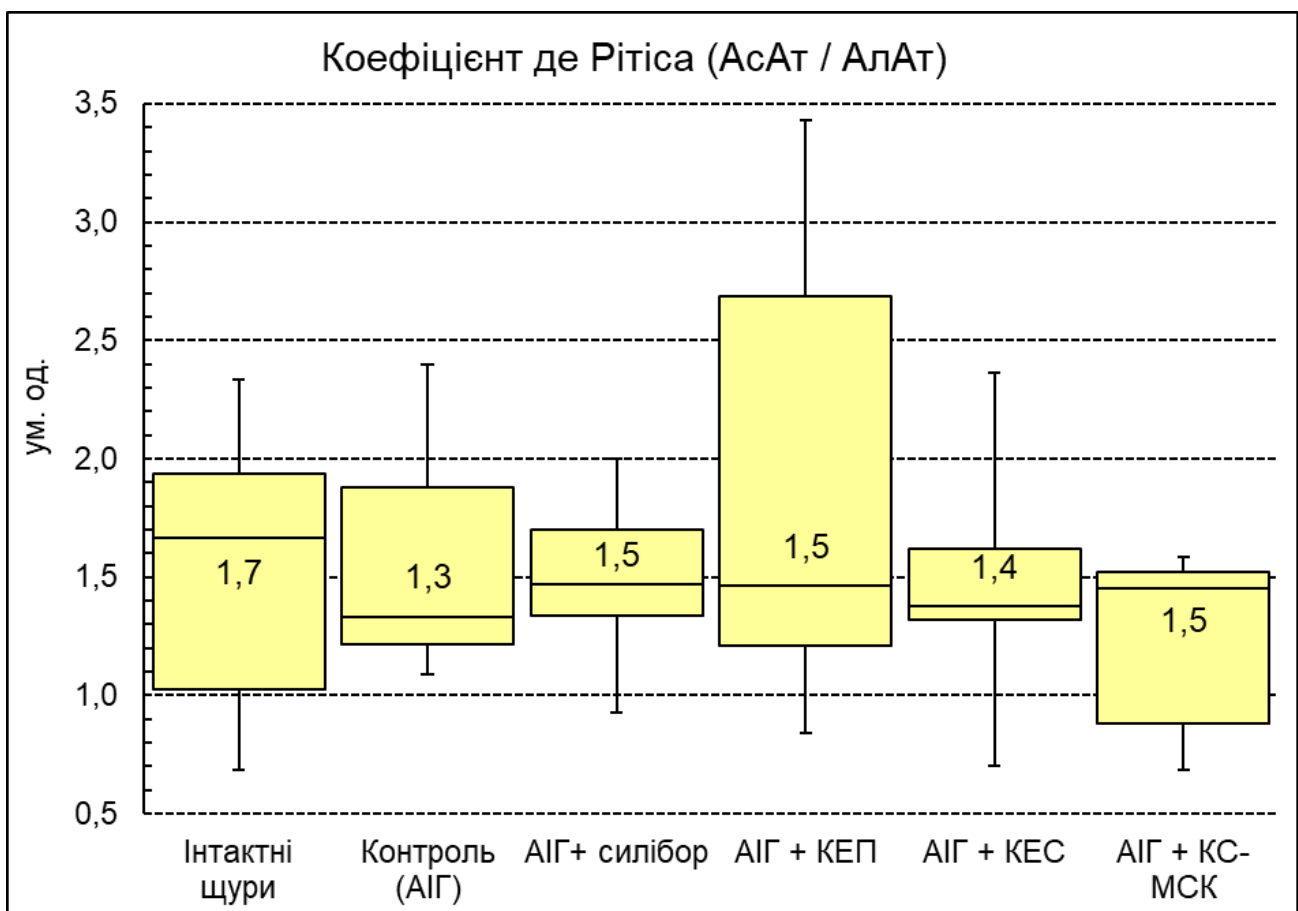


Рис. 14. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення коефіцієнта де Рітиса (АсАт / АлАт) у сироватці крові щурів з АІГ

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.

Встановлене зниження активності амінотрансфераз на тлі застосування силібору у щурів з АІГ призвело до зростання значення коефіцієнта де Рітиса на 10,0% (див. рис. 14). Також встановлене статистично вірогідне ($p=0,02$) зниження активності ЛФ на 22,1% відносно показників у щурів контрольної групи на тлі застосування силібору у щурів з АІГ (див. рис. 16).

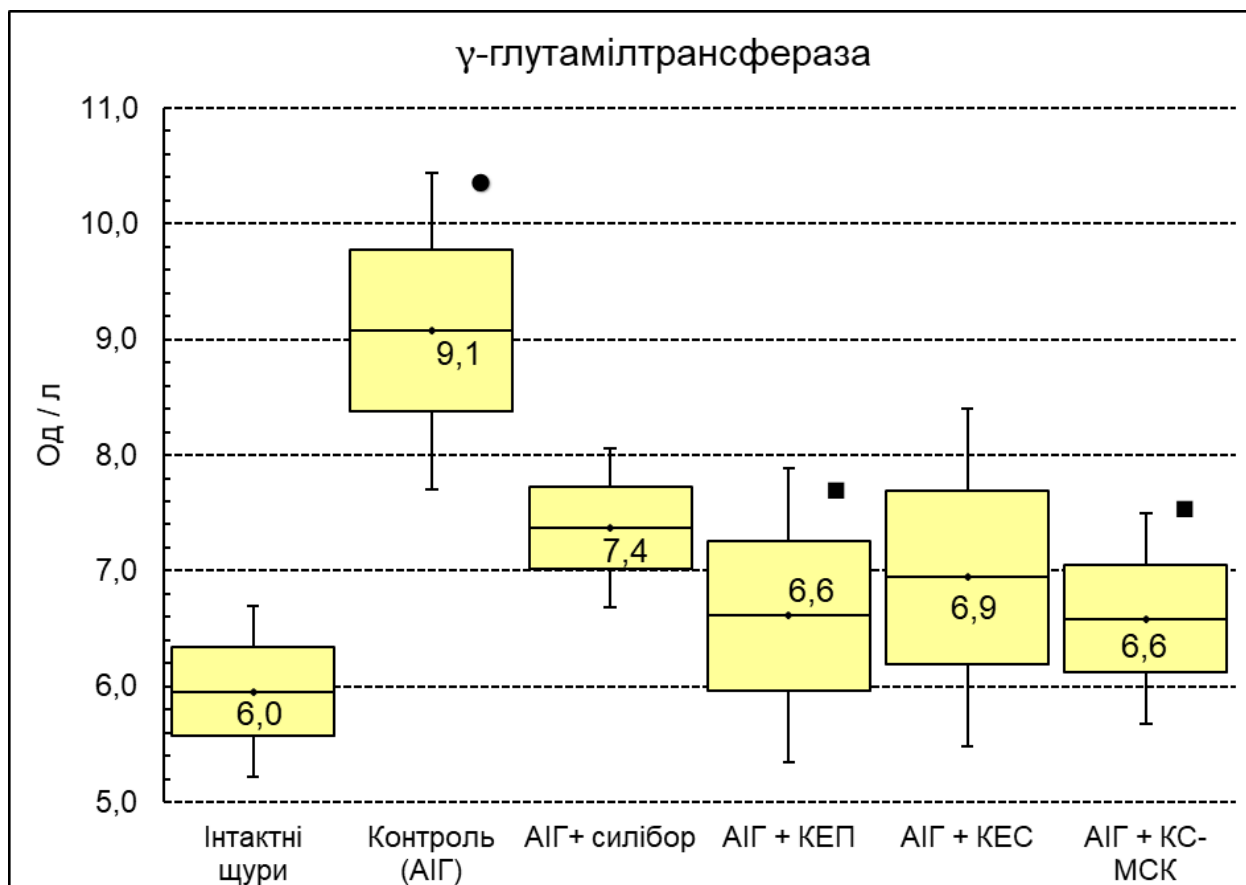


Рис. 15. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність γ -ГТТ у сироватці крові щурів з АІГ

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АІГ.

Як відомо, тканинно-неспецифічна ЛФ є ключовим ферментом, що бере участь у дефосфорилуванні різних фізіологічних субстратів і виконує життєво важливі фізіологічні функції, включаючи позаскелетні функції, такі як розвиток нейронів, детоксикація ліпополісахариду, протизапальна роль, регуляція рН жовчі та підтримка гематоенцефалічного бар'єру [160].

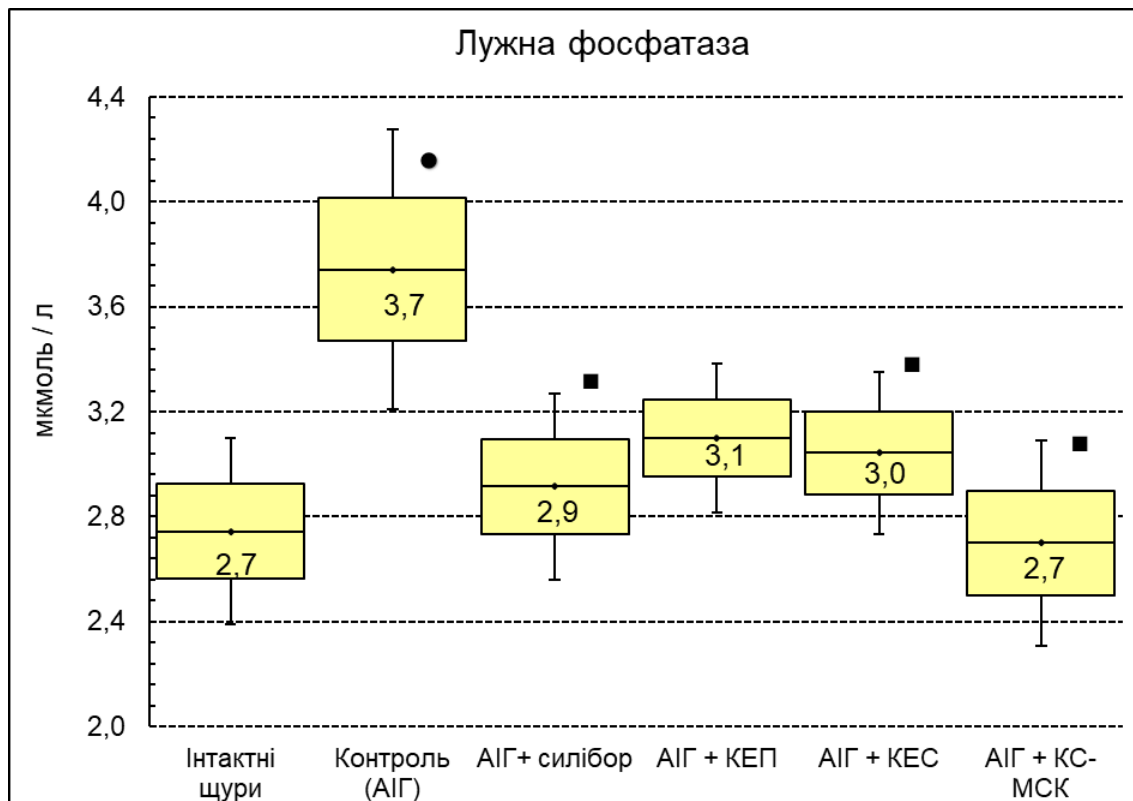


Рис. 16. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на активність ЛФ у сироватці крові щурів з АІГ

Примітки:

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

Застосування досліджуваних засобів призвело до виразного ослаблення ознак цитолітичного синдрому у щурів з АГ. Встановлено, що найвиразніше рівень АлАт знизився на тлі застосування КЕП та КС-МСК – активність вказаного ензиму знизилась відповідно на 35,0% ($p < 0,05$) в обох випадках (див. табл. 32) відносно показників щурів з АГ без лікування. В той час активність АсАт найвиразніше статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на тлі застосування КС-МСК та становила відповідно $1,5 \pm 0,13$ (95% ДІ: 1,3–1,8) мкмоль / (мл × год), що на 23,2% ($p = 0,6$) перевищувало здатність референс-препарату силібору знижувати аналогічний показник у щурів з АГ.

Оцінка значення коефіцієнта де Рітіса показала, що найвиразнішу тенденцію до зростання цього показника відмічено на тлі застосування КЕП та КС-МСК (див. рис. 14).

Оцінка рівня γ -ГТП та ЛФ показала, що на тлі застосування біологічних препаратів у щурів з АГ, найвиразніше статистично вірогідне зниження активності γ -ГТП відмічено на тлі введення КЕП та КС-МСК – активність γ -ГТП знизилась відповідно на 27,1% ($p = 0,024$) та на 27,4% ($p = 0,012$) відносно показників щурів контрольної групи (див. рис. 15). Найвиразніше зниження активності ЛФ у щурів з АГ відмічено на тлі введення КС-МСК – вказаний показник статистично вірогідно ($p = 0,009$) знизився на 27,9% відносно показників нелікованих щурів з АГ, та становив $2,7 \pm 0,20$ (95% ДІ: 2,3–3,1) мкмоль/л (див. рис. 16).

4.3 Оцінка білковосинтезуючої функції печінки при АГ у щурів на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Проведене дослідження показало, що на 52-й день експерименту у щурів з АГ відмічено порушення синтезу білка печінкою, на що вказувало статистично вірогідне ($p = 0,03$) зниження рівня загального білка в сироватці периферичної крові на 10,4% відносно показників інтактних тварин, що становило відповідно $60,0 \pm 1,7$ г/л (табл. 33).

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на показники білкового гомеостазу в сироватці крові щурів з АІГ на 52-й день експерименту, г/л ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=42$)

Досліджу- ваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щери	Контроль (АІГ без лікування)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальний білок, г/л	67,0±2,2 (95 % ДІ: 62,7-71,3)	60,0±1,7 (95 % ДІ: 56,7-63,6) $p_1=0,03$ [10,4%]	63,1±2,7 (95 % ДІ: 56,7-68,4) $p_2=0,3$ [5,2%]	65,1±2,6 (95 % ДІ: 60,1-70,2) $p_2=0,1$ [8,6%] $p_3=0,6$ [3,2%]	61,0±5,5 (95 % ДІ: 50,1-71,9) $p_2=0,9$ [1,7%] $p_3=0,7$ [13,4%]	72,1±1,6 (95 % ДІ: 68,9-75,4) $p_2<0,001$ [20,2%] $p_3=0,01$ [14,3%]
Альбуміни, г/л	36,7±1,7 (95 % ДІ: 33,4-40,1)	25,7±1,6 (95 % ДІ: 22,6-28,8) $p_1<0,001$ [30,0%]	32,9±2,0 (95 % ДІ: 29,0-36,7) $p_2=0,015$ [27,8%]	33,1±1,8 (95 % ДІ: 29,7-36,6) $p_2=0,009$ [28,9%] $p_3=0,9$ [0,9%]	33,4±1,7 (95 % ДІ: 30,1-36,7) $p_2=0,006$ [30,0%] $p_3=0,8$ [1,7%]	38,3±1,2 (95 % ДІ: 35,7-40,7) $p_2<0,001$ [48,9%] $p_3=0,037$ [16,5%]
Глобуліни, г/л	30,3±1,8 (95 % ДІ: 26,8-33,8)	34,3±1,5 (95 % ДІ: 31,4-37,2) $p_1=0,1$ [13,2%]	30,3±1,0 (95 % ДІ: 28,3-32,2) $p_2=0,045$ [11,7%]	32,0±1,3 (95 % ДІ: 29,5-34,5) $p_2=0,1$ [6,7%] $p_3=0,3$ [5,7%]	27,6±4,4 (95 % ДІ: 19,0-36,1) $p_2=0,2$ [19,6%] $p_3=0,5$ [9,0%]	33,9±1,8 (95 % ДІ: 30,3-37,4) $p_2=0,9$ [1,3%] $p_3=0,1$ [11,8%]

Примітки:

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

Зниження рівня загального білка відбулось здебільшого за рахунок фракції альбуміну – його вміст статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 30,0% відносно показників інтактних щурів. Рівень альбуміну у щурів з АІГ відповідно становив $25,7 \pm 1,6$ г/л (див. табл. 33).

У той же час рівень глобулінів знизився ($p = 0,1$) лише на 13,2% відносно аналогічного показника в інтактних тварин та становив $34,3 \pm 1,5$ г/л. Встановлене непропорційне зниження за окремими фракціями ЗБ призвело до статистично вірогідного ($p = 0,003$) зниження альбумін-глобулінового (А/Г) співвідношення на 38,5% відносно показників інтактних щурів, що становило $0,8 \pm 0,07$ ум. од. (рис. 17).

Внутрішньошлункове введення щурам з АІГ на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту референс-препарат силібору в дозі 50 мг/кг призвело до відновлення рівня ЗБ в сироватці периферичної крові, що вказувало на нівелювання порушень білковосинтезуючої функції печінки при її експериментальному аутоімунному ураженні. Дослідження показало, що рівень ЗБ у щурів з АІГ, яким вводили силібор, зріс на 5,2% ($p = 0,3$) відносно показників нелікованих тварин, що відбулось переважно за рахунок альбумінової фракції. Рівень альбумінів у щурів вказаної групи статистично вірогідно ($p = 0,015$) зріс на 27,8% відносно рівня у щурів контрольної групи (див. табл. 33). Рівень глобулінів у щурів з АІГ на тлі введення силібору, в свою чергу, статистично вірогідно ($p = 0,045$) зріс на 11,7% відносно показників щурів контрольної групи, що становило відповідно $30,3 \pm 1,5$ г/л.

Оцінка зміни А/Г-співвідношення показало, що введення референс-препарату силібору щурам з АІГ призвело до статистично вірогідного зростання ($p = 0,003$) зазначеного показника на 41,9% відносно значення аналогічного показника у щурів контрольної групи (див. рис. 17).

Здатність силібору відновлювати білковосинтезуючу функцію печінки на тлі АІГ у щурів узгоджується з літературними даними [120, 188] щодо гепатопротекторних властивостей вказаного препарату.

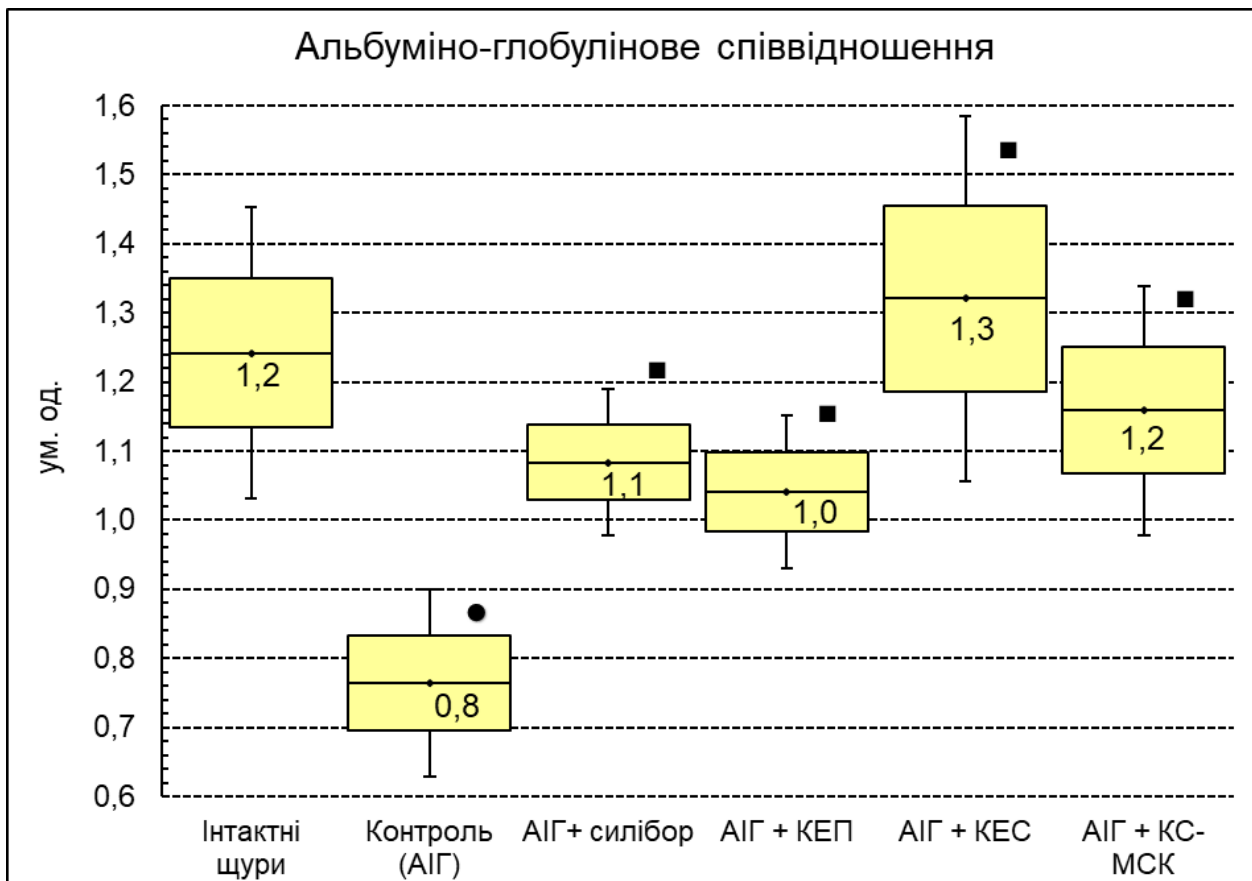


Рис. 17. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення альбумін-глобулінового співвідношення у крові щурів з АГ
Примітки:

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

Дослідження впливу безклітинних засобів на стан білковосинтезуючої функції печінки тварин з експериментальним АГ за їх введення на 42-й, 44-й, 46-й, 48-й та 50-й дні експерименту показала, що найвиразніше зростання рівня загального білка в сироватці крові відмічено на тлі застосування КС-МСК – рівень білка статистично вірогідно

($p < 0,001$) зріс на 20,2% відносно показників тварин групи контролю, та становив $72,1 \pm 1,6$ г/л, що на 14,3% статистично вірогідно перевищувало ($p = 0,01$) аналогічний показник тварин, яким вводили референс-препарат силібор. На тлі введення досліджуваних кріоекстрактів рівень ЗБ у щурів з АІГ показав менш виразне зростання. Так, на тлі введення КЕП рівень білка зріс ($p = 0,1$) на 8,6%, а на тлі введення КЕС - зріс ($p = 0,9$) на 1,7% відносно показників щурів групи контролю, та становив відповідно $65,1 \pm 2,6$ г/л та $61,0 \pm 5,5$ г/л (див. табл. 33).

Оцінка зміни рівня білка за його фракціями показала, що на тлі введення КС-МСК рівень вказаного показника на 48,9% ($p < 0,001$) зріс за рахунок альбумінової фракції, в той час як рівень глобулінів на тлі введення зазначеного біопрепарату мав найменшу тенденцію до зростання - рівень глобулінів на тлі введення КС-МСК зріс ($p = 0,9$) лише на 1,3% (див. табл. 33).

Диспропорційне зростання рівня фракцій ЗБ на тлі введення досліджуваних біопрепаратів у щурів з АІГ призвело до статистично вірогідного зростання значення А/Г-співвідношення. Найвиразніше А/Г-співвідношення зросло ($p = 0,003$) на тлі введення КЕС та становило $1,3 \pm 0,13$ ум. од. (див. рис. 17). Отримані результати оцінки зміни А/Г-співвідношення на тлі застосування безклітинних засобів можна розцінювати як показник ефективності відновлення білковосинтезуючої функції печінки у щурів з АІГ, це узгоджується з даними літератури, що А/Г-співвідношення, яке враховує як альбумін, так і глобулін, є зручним серологічним індикатором для ідентифікації цілої низки аномалій сироваткового білка [35, 162].

4.4 Антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз при АІГ у щурів після введення КЕП, КЕС та КС-МСК

Дослідження стану антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах печінки на тлі розвитку АІГ показало зростання вмісту ТБК-РП ($p < 0,001$) на 172,5%, що відбувалось на тлі зниження ($p = 0,004$) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% ($p = 0,4$) активності каталази (табл. 34).

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на біохімічні показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах печінки щурів з АІГ на 52-й день, ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджу- ваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікування)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини	5,7±0,57 (95 % ДІ: 4,6–6,8)	15,6±1,09 (95 % ДІ: 13,4–17,7) $p_1 < 0,001$ [172,5%]	8,9±0,86 (95 % ДІ: 7,2–10,5) $p_2 < 0,001$ [43,1%]	11,1±0,63 (95 % ДІ: 9,9–12,4) $p_2 < 0,01$ [28,4%] $p_3 < 0,1$ [25,8%]	11,9±1,24 (95 % ДІ: 9,4–14,3) $p_2 < 0,05$ [23,9%] $p_3 < 0,1$ [31,3%]	6,4±0,53 (95 % ДІ: 5,4–7,5) $p_2 < 0,001$ [58,7%] $p_3 < 0,05$ [27,4%]
Каталаза, мкат/кг тканини	2,1±0,46 (95 % ДІ: 1,2–3,0)	1,7±0,29 (95 % ДІ: 1,2–2,3) $p_1 = 0,4$ [20,0%]	2,3±0,42 (95 % ДІ: 1,5–3,1) $p_2 = 0,3$ [33,3%]	2,1±0,34 (95 % ДІ: 1,5–2,8) $p_2 = 0,4$ [25,0%] $p_3 = 0,8$ [6,3%]	1,9±0,34 (95 % ДІ: 1,2–2,5) $p_2 = 0,8$ [8,3%] $p_3 = 0,4$ [18,8%]	2,0±0,31 (95 % ДІ: 1,4–2,6) $p_2 = 0,5$ [16,7%] $p_3 = 0,6$ [12,5%]
СОД, ум. од. / кг	5,0 [3,5; 7,5]	3,0 [2,0; 3,0] $p_1 = 0,004$ [40,0%]	5,0 [4,5; 7,5] $p_2 = 0,006$ [66,7%]	4,0 [2,5; 5,5] $p_2 = 0,08$ [33,3%] $p_3 = 0,1$ [20,0%]	4,0 [2,5; 6,0] $p_2 = 0,3$ [20,0%] $p_3 = 0,3$ [20,0%]	5,0 [4,5; 9,0] $p_2 = 0,006$ [66,7%] $p_3 = 0,3$ [0%]

Примітки:

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

Вказані ознаки активації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та виснаження антиоксидантної системи (АОС) призвели до статистично вірогідного зниження ($p=0,002$) інтегрального показника ПОЛ-АОС – АПІ на 71,0% відносно показників інтактних щурів (рис. 17). Показана активація ПОЛ узгоджується з даними літератури про розвиток оксидантного стресу у хворих на АІГ [142].

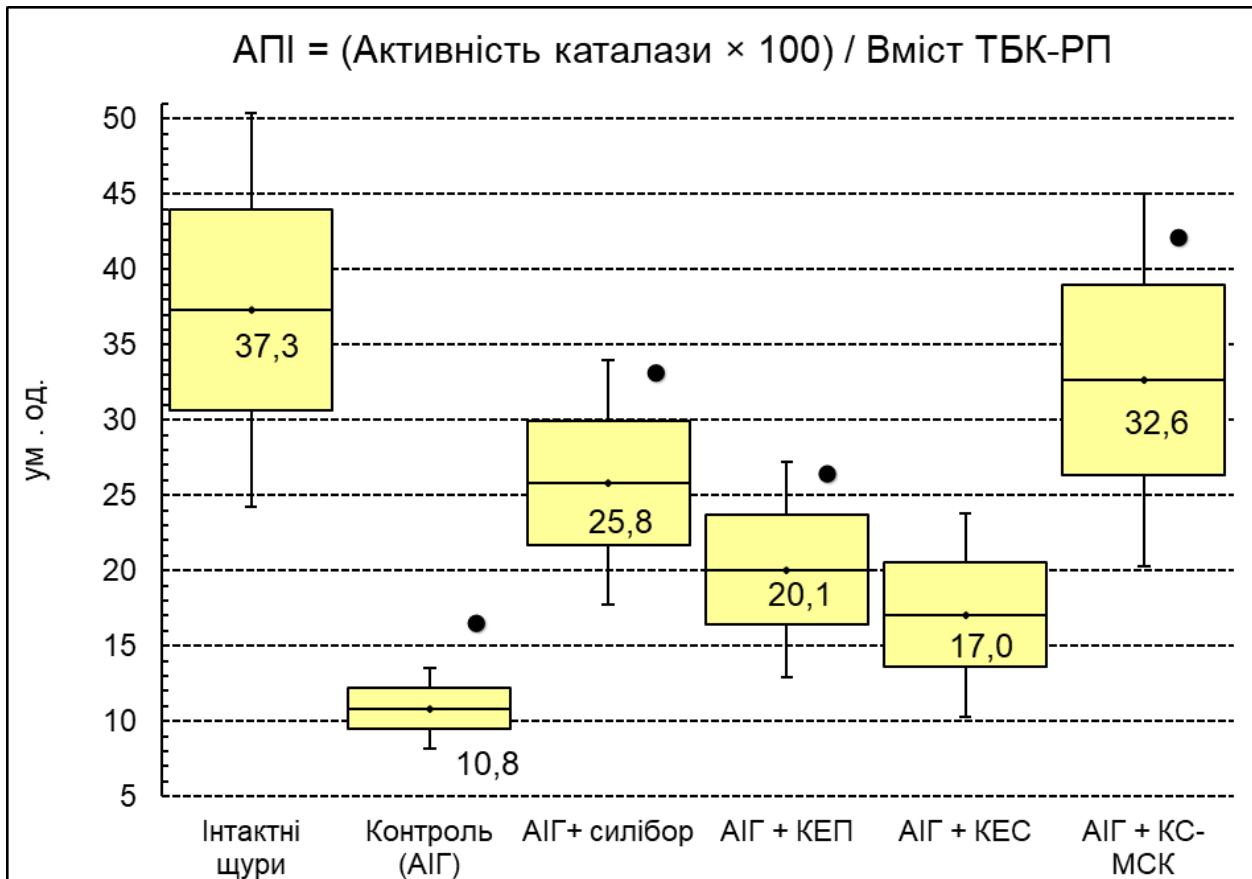


Рис. 18. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки щурів з АІГ

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів.

Досліджувані кріоекстракти поступались за здатністю нівелювати ПОЛ референс-препарату силібору. Так, рівень ТБК-РП у щурів з АІГ на тлі введення силібору становив 8,9 мкмоль/кг тканини, в той час як на тлі введення КЕП цей показник становив 11,1 мкмоль/кг тканини, а на тлі введення КЕС – 11,9 мкмоль/кг тканини, що відповідно на 28,4% ($p < 0,01$) та на 23,9% ($p < 0,05$) було нижче за показники щурів контрольної групи (див. табл. 34).

Найвиразніше пригнічення процесів ПОЛ відмічено на тлі застосування КС-МСК у щурів з АІГ – рівень ТБК-РП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 58,7% відносно тварин контрольної групи та становив 6,4 мкмоль/кг тканини (див. табл. 34).

За здатністю відновлювати активність каталази у тканинах печінки на тлі АІГ у щурів всі досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби поступались референс-препарату силібору. Так, за здатністю відновлювати активність каталази досліджувані засоби можна розташувати у такій послідовності (за % зростання щодо показників щурів контрольної групи): силібор (33,3%; $p = 0,3$) > КЕП (25,0%; $p = 0,4$) > КС-МСК (16,7%; $p = 0,5$) > КЕС (8,3%; $p = 0,8$).

За здатністю відновлювати активність СОД у щурів на тлі АІГ досліджувані кріоекстракти поступались за ефективністю референс-препарату силібору. В той же час, встановлено, що введення КС-МСК чинило зіставляваний з силібором вплив на активність СОД – її активність статистично вірогідно ($p = 0,006$) зросла на 66,7% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 34).

За здатністю відновлювати баланс у системі ПОЛ-АОС досліджувані біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності (% зростанні АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p = 0,005$) > КЕП (85,3%; $p = 0,002$) > КЕС (57,5%; $p = 0,1$).

Встановлені антиоксидантні властивості у КС-МСК узгоджувались з даними літератури про наявність зазначеної активності у похідних МСК [144, 225].

4.5 Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному АІГ та введенні КЕП, КЕС та КС-МСК

Дослідження показало, що розвиток АІГ супроводжувався статистично вірогідним зниженням рівня АТФ на 55,1% ($p < 0,001$) та зниженням рівня АДФ на 57,1% ($p = 0,1$). Рівень же АМФ у гепатоцитах щурів з АІГ навпаки зріс у 2,6 разу ($p < 0,01$) відносно показників інтактних щурів та становив $1,8 \pm 0,23$ мкмоль/г (табл. 35).

Ці процеси пов'язані один з одним за допомогою аденозинових нуклеотидів, які споживаються або регенеруються різними ферментативними реакціями. Насправді найважливішими регуляторними елементами, які беруть участь у поєднанні катаболічних і анаболічних реакцій, є АТФ, АДФ та АМФ [43].

Варто зазначити, що співвідношення АТФ, АДФ та АМФ функціонально важливіше, ніж абсолютна концентрація АТФ. Саме тому різні співвідношення часто використовувалися для перевірки метаболічних шляхів, які виробляють і споживають АТФ [43]. Аденилатний енергетичний заряд (АЕЗ) – це скалярний індекс, що варіюється від 0 до 1. Коли весь пул аденинових нуклеотидів знаходиться у формі АМФ, енергетичний заряд дорівнює нулю, і система повністю розряджена (нульові концентрації АТФ та АДФ). Тільки з АДФ енергетичний заряд становить 0,5. Якщо весь пул аденинових нуклеотидів знаходиться у формі АТФ, тоді АЕЗ дорівнює 1.

Виявлені у дослідженні зміни вмісту аденилових нуклеотидів на тлі розвитку АІГ призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження ЕЗ (син. АЕЗ) на 42,5% відносно показників інтактних щурів, який становив $0,41 \pm 0,03$ ум. од. (рис. 19). Застосування референс-препарату силібору призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зростання рівня АТФ у гепатоцитах щурів з АІГ на 54,7% та зниження ($p < 0,05$) рівня АМФ на 34,1% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 35). Також відмічено зростання рівня АДФ ($p = 0,1$) на 33,1% щодо показників нелікованих щурів з АІГ.

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на вміст аденолових нуклеотидів у тканинах печінки щурів з АІГ на 52-й день експерименту, мкмоль/г ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджу- ваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щери	Контроль (АІГ без лікування)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г тканини	2,4±0,11 (95 % ДІ: 2,2-2,6)	1,1±0,10 (95 % ДІ: 0,9-1,3) $p_1 < 0,001$ [55,1%]	1,7±0,16 (95 % ДІ: 1,4-2,0) $p_2 < 0,05$ [54,7%]	2,0±0,09 (95 % ДІ: 1,8-2,2) $p_2 < 0,001$ [89,3%] $p_3 = 0,1$ [22,4%]	1,8±0,11 (95 % ДІ: 1,6-2,1) $p_2 < 0,001$ [72,0%] $p_3 = 0,4$ [19,9%]	2,2±0,12 (95 % ДІ: 1,9-2,4) $p_2 < 0,001$ [102,7%] $p_3 < 0,05$ [31,0%]
АДФ, мкмоль/г тканини	1,4 [0,8; 1,6]	0,6 [0,5; 1,0] $p_1 = 0,1$ [57,1%]	0,8 [0,7; 0,9] $p_2 = 0,1$ [33,3%]	0,9 [0,9; 1,2] $p_2 = 0,08$ [50,0%] $p_3 = 0,03$ [12,5%]	0,7 [0,7; 1,0] $p_2 < 0,2$ [16,7%] $p_3 = 0,4$ [12,5%]	1,1 [1,1; 1,2] $p_2 = 0,09$ [83,3%] $p_3 = 0,04$ [37,5%]
АМФ, мкмоль/г тканини	0,7±0,14 (95 % ДІ: 0,4-1,0)	1,8±0,23 (95 % ДІ: 1,4-2,3) $p_1 < 0,01$ [163,3%]	1,2±0,17 (95 % ДІ: 0,9-1,6) $p_2 < 0,049$ [34,1%]	1,4±0,14 (95 % ДІ: 1,1-1,7) $p_2 < 0,01$ [24,8%] $p_3 = 0,5$ [14,1%]	1,4±0,16 (95 % ДІ: 1,1-1,7) $p_2 = 0,1$ [23,3%] $p_3 = 0,4$ [16,5%]	0,8±0,09 (95 % ДІ: 0,6-1,0) $p_2 < 0,01$ [58,1%] $p_3 = 0,04$ [36,5%]

Примітки:

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

Вказані зміни співвідношення рівня АТФ, АДФ та АМФ у гепатоцитах щурів з АІГ на тлі введення силібору зумовили статистично вірогідне ($p < 0,01$) зростання АЕЗ на 37,8% відносно аналогічного показника у щурів групи контролю (див. рис. 19). Встановлена здатність силібору відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах на тлі АІГ у щурів узгоджується з широким спектром його біологічної активності.

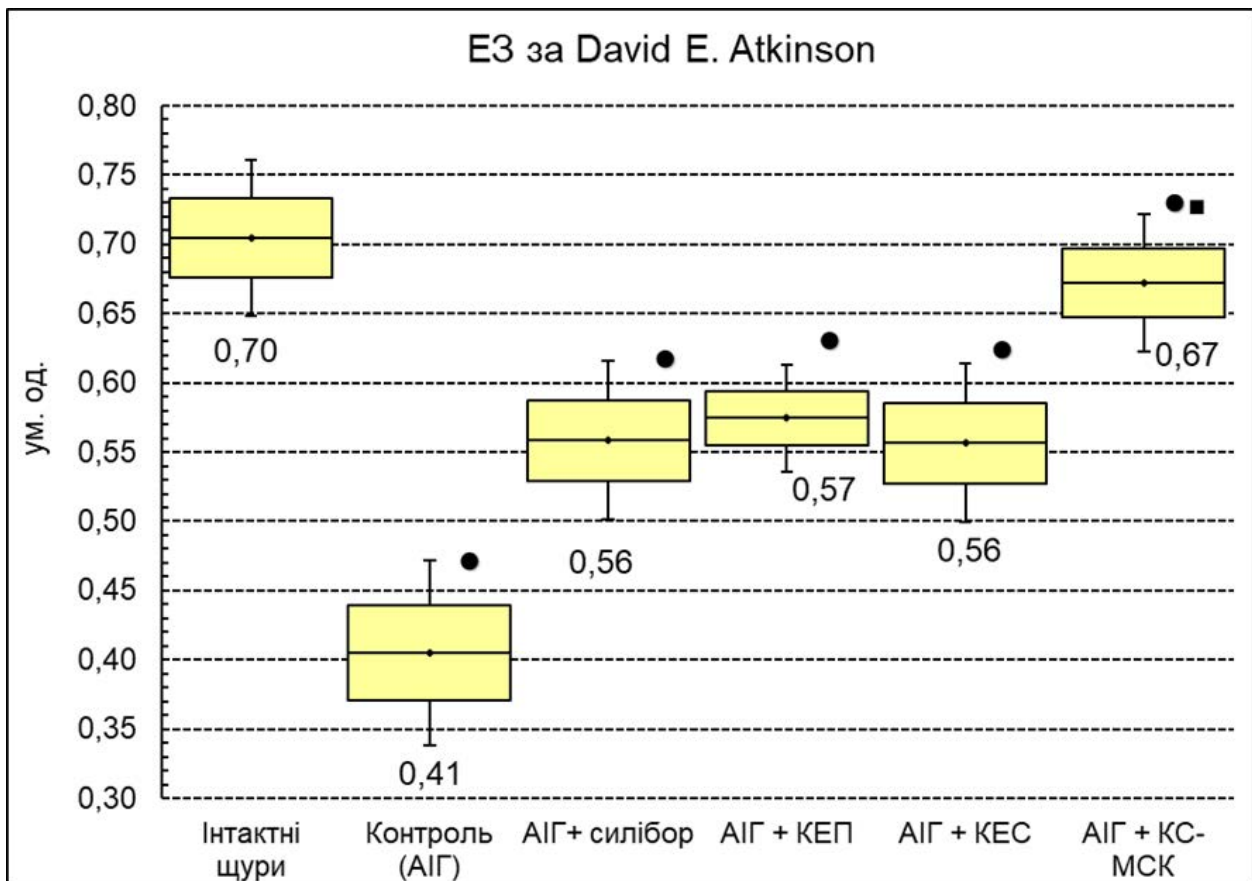


Рис. 19. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson у гомогенатах печінки щурів з АІГ

Примітки:

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

Встановлено, що КЕС зіставляваний за ефективністю з референс-препаратом силібором. Так, на тлі введення КЕС АЕЗ статистично вірогідно ($p < 0,01$) зріс на 37,3% відносно показників щурів контрольної групи та становив $0,56 \pm 0,03$ ум. од. (див. рис. 19). Варто зазначити, що на відміну від силібору, введення КЕС супроводжувалось у 1,3 разу більшим зростанням рівня АТФ (72,0% проти 54,7%), проте менш виразно відновлювались до вихідних показників рівні АМФ та АДФ (див. табл. 35).

Доведено, що застосування КЕП у щурів з АІГ показало більш виразу, ніж введення КЕС, здатність нормалізувати енергетичний обмін у гепатоцитах. Встановлено, що на тлі введення КЕП рівень АТФ зріс ($p < 0,001$) на 89,3%, рівень АДФ зріс ($p = 0,08$) на 50,0%, а рівень АМФ знизився ($p < 0,01$) на 24,8% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 35).

Найвиразніші зміни показників енергетичного обміну виявлено на тлі застосування КС-МСК. Встановлено, що у тварин з АІГ, яким вводили КС-МСК рівень АТФ зріс ($p < 0,001$) на 102,7%; рівень АДФ зріс ($p = 0,09$) на 83,3%, а рівень АМФ знизився ($p < 0,01$) на 58,1% відносно показників нелікованих щурів з АІГ (див. табл. 35). Варто зазначити, що на тлі введення КС-МСК відзначено найвиразніше зростання АЕЗ – вказаний показник статистично вірогідно ($p < 0,001$) підвищився на 65,8% відносно показників нелікованих тварин з АІГ та становив $0,67 \pm 0,03$ ум. од. (див. рис. 19).

4.6 Характеристика клітинного циклу гепатоцитів при застосуванні КЕП, КЕС та КС-МСК на моделі АІГ

Протоковою ДНК-цитометрією встановлено, що при АІГ відбувається статистично вірогідне ($p = 0,007$) зменшення частки гепатоцитів у фазі клітинного циклу G0G1 на 12,7% на тлі зростання частки клітин у фазі S та у фазі G2M відповідно на 28,7% ($p = 0,037$) та 13,0% ($p = 0,3$) відносно показників інтактних щурів (табл. 36).

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на клітинний цикл гепатоцитів щурів з АІГ на 52-й день експерименту, % (М ± m (95 % ДІ), n=42)

Досліджу- ваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АІГ без лікув.)	АІГ + силібор	АІГ + КЕП	АІГ + КЕС	АІГ + КС-МСК
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Частка клітин у фазі G0G1 клітинного циклу, %	71,5±1,7 (95 % ДІ: 68,2-74,7)	62,4±2,2 (95 % ДІ: 58,0-66,7) p ₁ =0,007 [12,7%]	65,3±0,7 (95 % ДІ: 63,8-66,7) p ₂ =0,3 [4,6%]	69,9±1,4 (95 % ДІ: 67,1-72,7) p ₂ =0,018 [12,0%] p ₃ =0,019 [7,0%]	71,7±0,6 (95 % ДІ: 70,6-72,8) p ₂ =0,002 [15,0%] p ₃ <0,001 [10,5%]	74,9±1,3 (95 % ДІ: 72,3-77,4) p ₂ <0,001 [20,1%] p ₃ <0,001 [14,8%]
Частка клітин у фазі S клітинного циклу, %	2,5±0,17 (95 % ДІ: 2,2-2,9)	3,3±0,26 (95 % ДІ: 2,8-3,8) p ₁ =0,037 [28,7%]	3,0±0,20 (95 % ДІ: 2,6-3,4) p ₂ =0,4 [8,3%]	2,8±0,25 (95 % ДІ: 2,4-3,3) p ₂ =0,3 [13,1%] p ₃ =0,6 [5,2%]	3,0±0,23 (95 % ДІ: 2,6-3,5) p ₂ =0,5 [7,4%] p ₃ =0,9 [1,0%]	2,2±0,17 (95 % ДІ: 1,8-2,5) p ₂ =0,004 [33,6%] p ₃ =0,009 [27,6%]
Частка клітин у фазі G2M клітинного циклу, %	22,5±1,8 (95 % ДІ: 19,0-25,9)	25,4±2,1 (95 % ДІ: 21,3-29,5) p ₁ =0,3 [13,0%]	24,4±1,1 (95 % ДІ: 22,3-26,6) p ₂ =0,7 [3,8%]	22,8±1,4 (95 % ДІ: 20,1-25,5) p ₂ =0,3 [10,1%] p ₃ =0,4 [6,6%]	20,4±0,6 (95 % ДІ: 19,2-21,6) p ₂ =0,039 [19,8%] p ₃ =0,007 [16,6%]	20,4±1,3 (95 % ДІ: 17,8-22,9) p ₂ =0,1 [10,7%] p ₃ =0,035 [16,6%]

Примітки:

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

Наведені зміни клітинного циклу гепатоцитів при АГ вказують на зменшення клітин у фазі «спокою», що може бути зумовлено як зниженням проліферативного потенціалу гепатоцитів під впливом аутоімунних каскадів, так і прямим цитотоксичним впливом на гепатоцити. Як відомо, після завершення поділу клітини можуть або перейти до фази G1 для відновлення наступного раунду клітинного циклу, або залишатися у стані спокою у фазі G0. У фазі G1 клітина збільшується в розмірах, починає транскрипцію генів контролю клітинного циклу (наприклад, циклінів) і синтезує білки, проводячи серію перевірок перед синтезом ДНК [46, 176].

Компенсаторне збільшення частки гепатоцитів у S та G2M фазах вказує на активацію регенеративного потенціалу печінки, проте воно нездатне забезпечити відновлення клітинного складу, попри зіставлювані відсоткові зміни у частках клітин G0G1 фази (-12,7%) та G2M фази (+13,0%), оскільки на тлі розвитку АГ у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання частки клітин із фрагментованою ДНК (SubG0G1) у 2,6 разу відносно аналогічного показника в інтактних щурів, що становило $9,0 \pm 0,41\%$ (рис. 20). Встановлене кратне зростання частки клітин SubG0G1 вказує на індукцію загибелі гепатоцитів при АГ у щурів.

Процес запрограмованої смерті клітин, або апоптоз, зазвичай характеризується різними морфологічними характеристиками та енергозалежними біохімічними механізмами, і найчастіше саме він розглядається наслідком зростання частки клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1). Варто зазначити, що за даними *Huang X. та співавт.* [72] кожен ядерний фрагмент, хромосома або мікроядро реєструється проточним цитометром як окремий об'єкт, що характеризується вмістом «SubG0G1» ДНК, і тому часто помилково класифікується як окрема апоптотична клітина. Це зміщення є особливо очевидним, коли для відображення вмісту ДНК на гістограмах використовується логарифмічна шкала, яка дозволяє записувати події лише з 1% або навіть 0,1% вмісту

ДНК у клітині G1. Такі події, звичайно, не можна класифікувати як окремі апоптотичні ядра.

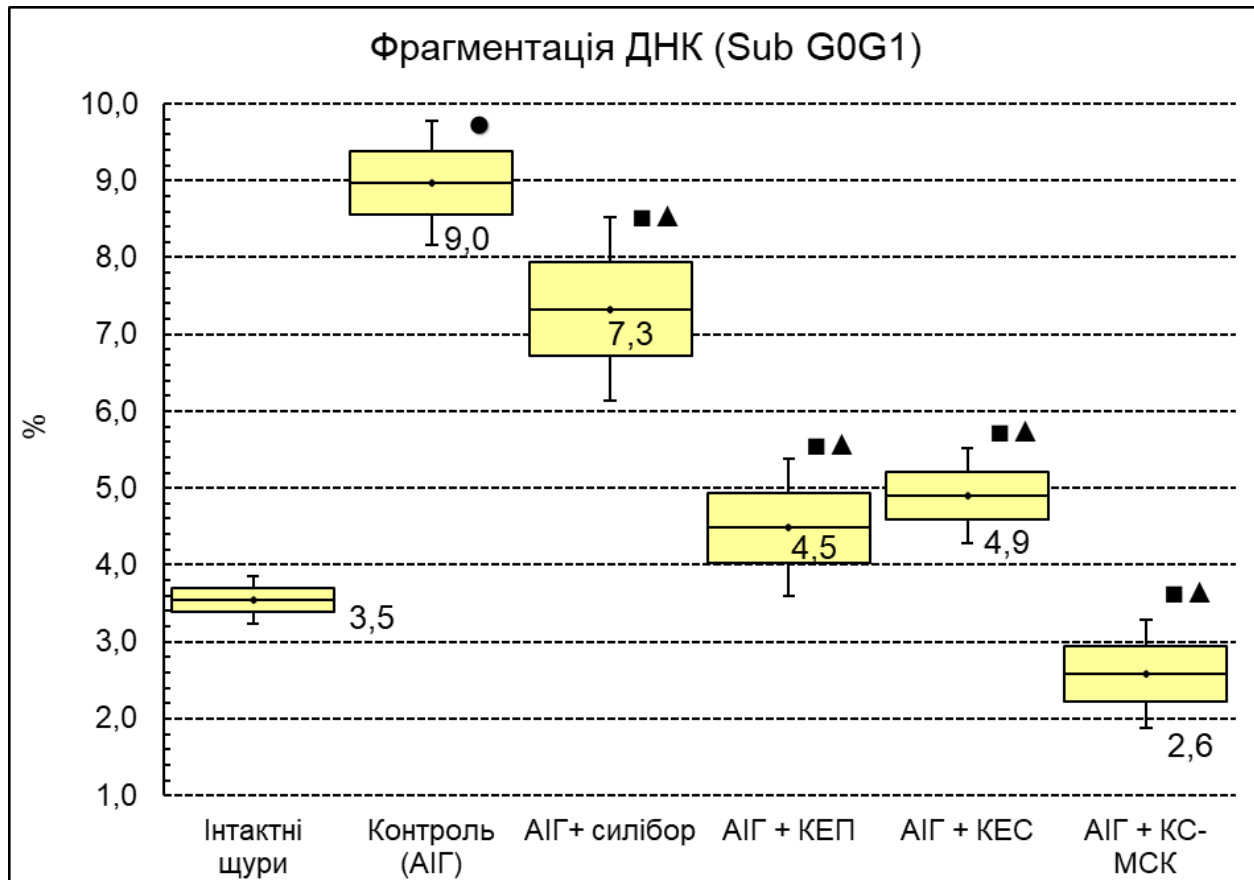


Рис. 20. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на фрагментацію ядерної ДНК гепатоцитів щурів з АІГ

Примітки:

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

Зазначені зміни у співвідношенні кількості гепатоцитів за фазами клітинного циклу призвели до зростання на 21,7%

($p=0,08$) інтегральної характеристики регенеративного потенціалу – проліферативного індексу (ПІ) (рис. 21). Зростання ПІ може вказувати на активацію компенсаторних механізмів у відповідь на аутоімунну агресію, спрямовану на клітини печінки при АІГ.

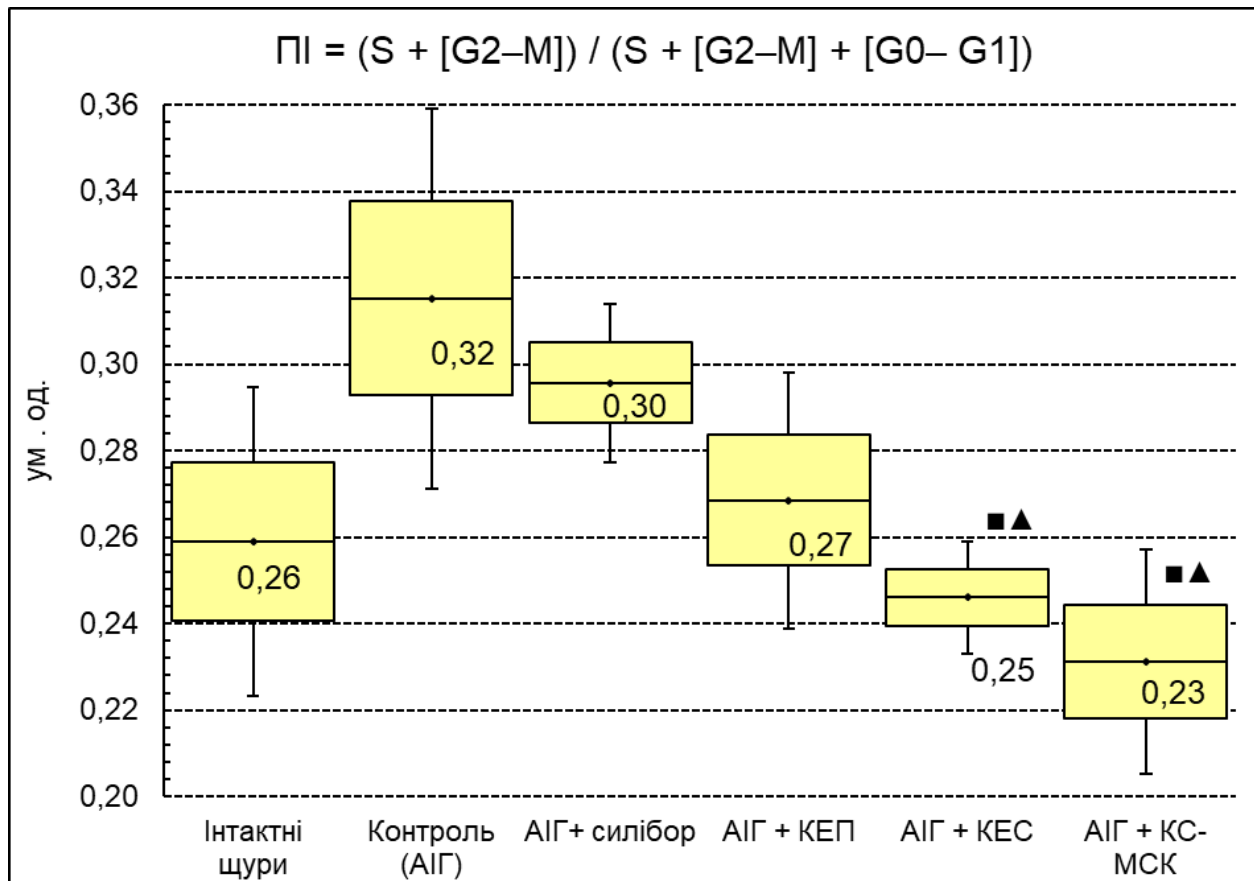


Рис. 21. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення проліферативного індексу гепатоцитів щурів з АІГ

Примітки:

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

На тлі введення референс-препарату силібору встановлено статистично вірогідне ($p=0,045$) зменшення частки гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1) на 18,3% відносно показників нелікованих тварин з АІГ (див. табл. 36).

Дослідження впливу біотехнологічних препаратів на клітинний цикл гепатоцитів щурів з АІГ показало, що за здатністю зменшувати частку клітин з фрагментованою ДНК досліджувані біотехнологічні препарати перевищували за ефективністю референс-препарат силібор. Так, на тлі введення КЕП частка клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1) статистично вірогідно ($p<0,001$) зменшилась вдвічі, на тлі введення КЕС – зменшилась ($p<0,001$) на 45,4%, а найбільше зменшення кількості клітин блоку SubG0G1 відмічено на тлі введення КС-МСК – досліджуваний показник статистично вірогідно ($p<0,001$) знизився на 71,2% відносно показників тварин контрольної групи (АІГ без лікування).

Крім того встановлено зростання частки гепатоцитів у фазі G0G1 на 12,0% ($p=0,018$), на 15,0% ($p=0,002$) та на 20,1% ($p<0,001$) відносно показників щурів контрольної групи, що вказувало на нівелювання цитолітичної дії, опосередкованої введенням антигенної гепатотропної суміші, що призвело до збільшення частки клітин у фазі «спокою» та росту.

Варто зазначити, що на тлі введення КС-МСК відмічено найвиразніше збільшення кількості гепатоцитів у S-фазі клітинного циклу, коли відбувається редуплікація ДНК, що вказує на активний поділ клітин під дією вказаного біологічного засобу. Так, на тлі введення КС-МСК частка клітин у S-фазі статистично вірогідно ($p=0,004$) зросла на 33,6% відносно показників нелікованих щурів з АІГ (див. табл. 36). Досліджувані кріоекстракти чинили значно слабший вплив на підготовку до поділу гепатоцитів. Так, на тлі введення КЕП у щурів з АІГ частка клітин у S-фазі за даними ДНК-цитометрії зросла лише на 13,1%, а на тлі введення КЕС – зросла на 7,4% відносно показників щурів контрольної групи, і жоден з

вказаних показників не досяг рівня статистичної значущості – $p=0,3$ та $p=0,5$ відповідно (див. табл. 36)

Оцінка активізації компенсаторної траєкторії підготовки до мітозу та власне мітозу (G2M-фаза), зумовленого загибеллю клітин, виходячи з даних, наведених вище щодо кількості клітин з фрагментованою ДНК (SubG0G1)), показала, що на тлі застосування досліджуваних безклітинних засобів, як і референс-препарату силібору, відмічалось зниження необхідності компенсаторного спрямування гепатоцитів за мітотичною траєкторією. Дослідження показало, що на тлі введення КЕП частка клітин у G2M-фазі знизилась на 10,1% ($p=0,3$), на тлі введення КС-МСК – аналогічний показник знизився на 10,7% ($p=0,1$), а найвиразніше частка клітин у G2M-фазі статистично вірогідно ($p=0,039$) знизилась на 19,8% відносно показників щурів контрольної групи на тлі застосування КЕС (див. табл. 36)



Токсичні ураження гепатобіліарної системи виступають важливою медико-соціальною проблемою, що зумовлено неухильним зростанням частоти розвитку хімічних гепатозів, які виникають внаслідок кумуляції в організмі різних ксенобіотиків. Залежно від інтенсивності надходження гепатотоксичних речовин може відбуватись масивний некроз гепатоцитів з розвитком гострої печінкової недостатності або ж хронічна інтоксикація з поступовими дегенеративними змінами, як при хронічних вірусних гепатитах при виснаженні компенсаторних можливостей організму. За хронічного ураження печінки токсичними речовинами частіше спостерігається розвиток жирової дистрофії на тлі змін сполучної тканини у вигляді неспецифічного реактивного гепатиту [1, 129].

Чи не найбільш дослідженою гепатотоксичною речовиною вважається CCl_4 , який вільно надходить в атмосферу у складі промислових викидів хімічних підприємств, а також утворюється під час хлорування питної води. При надходженні в організм CCl_4 , крім системних ефектів, викликає активацію процесів перекисного окиснення ліпідів у гепатоцитах, що призводить до руйнування мембран мітохондрій, лізосом, мікросом та вивільнення ферментів, розпаду білків та подальшої загибелі клітин. Саме тому модельовані введенням CCl_4 ураження печінки за біохімічними

та патоморфологічними змінами є аналогом гострих гепатитів різної етіології у людини [39, 190].

На тлі розвитку CCl_4 -індукованого гепатиту відмічається статистично вірогідне підвищення вмісту ТБК-РП у 3 рази ($p < 0,01$) відносно інтактних тварин при одночасному виснаженні АОС. Крім того, відмічаються ознаки розвитку цитолітичного синдрому, що підтверджується статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням рівня АлАт та АсАт у 2,3 та 2,1 разу, а також статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання активності γ -ГТП та ЛФ на 64,8% та 85,8% відповідно відносно показників інтактних тварин.

Профілактичне п'ятиденне введення КЕП приводить до нівелювання CCl_4 -індукованої активації ПОЛ та ознак синдрому цитолізу: вміст ТБК-РП у гомогенатах печінки статистично вірогідно ($p < 0,01$) знизився на 35,6% відносно показників щурів контрольної групи та становив $12,1 \pm 1,71$ (95% ДІ: 8,8–15,5) мкмоль/кг тканини; рівень АлАТ після введення КЕП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 56,0%; рівень АсАТ – знизився ($p < 0,001$) на 48,6%, рівень γ -ГТП – знизився на 37,8% відносно показників щурів з CCl_4 -індукованим гепатитом без лікування.

Встановлено, що розвиток CCl_4 -індукованого гепатиту супроводжується формуванням холестатичного синдрому та порушенням енергетичного обміну в тканинах печінки. На це вказувало зростання ($p < 0,001$) рівня загального білірубіну у 4,5 разу та зниження ($p < 0,001$) ЕЗ на 42,6% відносно показників інтактних щурів.

Профілактичне п'ятиденне введення КЕП приводило до зниження ($p < 0,001$) рівня загального білірубіну на 33,9% та зниження ($p < 0,001$) рівнів прямого і непрямого білірубіну на 10,6% та 65,1% відповідно відносно показників тварин з експериментальним токсичним гепатитом. Це вказувало на послаблення холестатичного синдрому та опосередковано – про ослаблення запальної інфільтрації на тлі цитолітичних процесів у печінці.

Встановлено, що КЕП чинить енергостабілізуючу дію на гепатоцити щурів зі змодельованим ТХМ-індукованим ураженням печінки. На це вказувало зростання ($p=0,02$) енергетичного заряду на 18,2% відносно показників тварин контрольної групи.

Розвиток експериментального ДГА гепатиту у щурів призводить до формування функціональних та метаболічних розладів у вигляді активації процесів пероксидного окиснення ліпідів, порушення пігментного обміну, зниження білоксинтезуючої функції та розвитку цитолітичного синдрому, на що вказували відповідно зростання ($p<0,001$) рівня ТБК-РП у гомогенатах печінки у 2,2 разу, підвищення ($p<0,001$) рівня загального білірубіну у 2,5 разу, зниження $p<0,001$ альбумін-глобулінового співвідношення на 46,8%, та зростання ($p<0,001$) рівня АлАт у 2,2 разу та рівня АсАт на 70,3% відносно показників інтактних тварин.

Зіставляючи підвищену концентрацію загального та непрямого білірубіну в сироватці крові зі зростанням рівня пероксидного окиснення ліпідів на тлі розвитку ДГА-індукованого гепатиту, можна зробити висновок, що відбувається не тільки ушкодження мембран гепатоцитів, а й порушується функціонування мембранозв'язаних транспортних систем, пов'язаних із захопленням непрямого білірубіну [85, 90, 155, 165, 248].

Застосування КЕП привело до послаблення всіх зазначених розладів з боку печінки при ДГА-індукованому гепатиті. Так встановлено, що у щурів, яким вводили КЕП, відмічено статистично вірогідне ($p<0,001$) зниження вмісту ТБК-РП у гомогенатах печінки на 43,8% відносно показників щурів групи контролю. В свою чергу АПІ зріс ($p=0,07$) на 51,6% відносно показників тварин контрольної групи. Отримані дані вказують на здатність КЕП ослаблювати гіперактивацію пероксидного окиснення ліпідів у тканинах печінки на тлі експериментального гепатиту у щурів. Це узгоджується з даними літератури про антиоксидантну активність КЕП,

зокрема при експериментальному ураженні шлунка, яєчників та ін.

Варто зазначити, що за антиоксидантною активністю КЕП у 1,8 разу перевищував ефективність референс-препарату силібору, на тлі введення якого вміст ТБК-РП в гомогенатах печінки статистично вірогідно знизився ($p < 0,01$) на 24,1% відносно показників щурів контрольної групи.

Як відомо, силібор є рослинним екстрактом з насіння розторопші плямистої (*Silybum marianum*), що широко застосовується в якості гепатопротекторного препарату для профілактики та лікування захворювань печінки різної етіології. Основним компонентом цього екстракту є силібінта та інші флаволігнани (силідіанін, силікрин, ізосилібін, дигідросилібін), флавоноїди (таксифолін та кверцетин) та інші поліфенольні сполуки. Антиоксидантний, мембраностабілізуючий, протизапальний, імуномодулювальний, антифібротичний та регенераційний ефекти силібору підтверджені експертами Всесвітньої організації охорони здоров'я та міжнародними клінічними дослідженнями [14, 101].

Оцінка впливу КЕП та силібору на цитоліз гепатоцитів та пігментний обмін показала, що на тлі введення зазначених препаратів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівня АлАт на 56,0% та 57,2% відповідно відносно показників щурів контрольної групи. В свою чергу рівень АсАт на тлі введення КЕП знизився ($p < 0,001$) на 45,3%, а на тлі застосування силібору – знизився ($p < 0,001$) на 39,0% відносно рівня аналогічного показника у тварин групи контролю. Вказані зміни з боку амінотрансфераз зумовили зростання коефіцієнта де Рітиса на тлі введення КЕП ($p = 0,14$) на 31,9%, а на тлі введення силібору – на 42,3% ($p < 0,001$) відносно показників нелікованих тварин. Отримані дані про нівелювання цитолітичного синдрому на тлі введення КЕП, яке за ефективністю зіставлялось з силібором, ймовірно зумовлені мембраностабілізуючою активністю КЕП.

Введення КЕП нівелювало ДГА-індуковану гіпербілірубінемію, що зумовлено гепатотропною цитопротективною дією досліджуваного кріоекстракту, а також вказує на відновлення функціонування мембранозв'язаних транспортних систем, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівня загального білірубіну на 53,5% відносно показників тварин групи контролю та становив відповідно 18,0 [16,5; 19,5] ммоль/л, що практично зіставляється з показниками інтактних щурів (15,0 [15,0; 17,5] ммоль/л), в той час як на тлі введення силібору аналогічний показник становив 20,0 [17,0; 21,5] ммоль/л. Крім того показано, що введення КЕП значною мірою приводило до зниження непрямого білірубіну – зазначений показник статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 42,7%, в той час як на тлі введення силібору цей показник знижувався ($p = 0,18$) лише на 8,3%.

Дослідження показало, що введення КЕП, як і силібору, зіставляється за здатністю відновлювати білоксинтезуючу функцію печінки у щурів з ДГА-індукованим гепатитом. Так встановлено, що рівень альбумінів як на тлі введення КЕП, так і на тлі введення силібору статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс у 1,7 рази відносно показників нелікованих тварин, а альбумін-глобулінове співвідношення зросло відповідно у 1,9 ($p < 0,01$) та 2,0 ($p < 0,001$) рази.

Встановлена здатність КЕП знижувати рівень сечовини та креатиніну в сироватці крові щурів з ДГА-індукованим гепатитом відповідно на 66,1% ($p < 0,01$) та 23,4% ($p < 0,001$) відносно показників нелікованих тварин на нашу думку слугує відображенням не тільки нормалізації білоксинтезуючої функції печінки, а й узгоджується із даними літератури про нефропротекторні ефекти досліджуваного кріоекстракту.

Моделювання гострого парацетамол-індукованого гепатиту у щурів призводило до важкого ушкодження паренхіми печінки, зумовленого утворенням високотоксичного метаболіту N-ацетил-p-бензохіноніміну, здатного утворювати незворотні ковалентні зв'язки з життєво важливими

макромолекулами гепатоцитів. Це проявлялось активацією процесів перекисного окиснення ліпідів у тканинах печінки, на що вказувало статистично вірогідне зростання ($p < 0,001$) вмісту ТБК-РП у гомогенатах печінки на 71,3%, відносно показників інтактних тварин. Крім того відмічались явища цитолітичного синдрому, що підтверджувалось статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням активності АлАт у 2,1 рази та зростанням ($p < 0,001$) активності АсАт на 58,8%, а також ознаками холестазу, що підтверджувалось статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням концентрації загального білірубіну у 4,2 разу, відносно показників інтактних щурів.

КЕП проявляє виразну гепатопротекторну активність на тлі парацетамол-індукованого гепатиту у щурів. Застосування КЕП, як і АЦЦ, привело до зростання ($p < 0,01$) АПІ у 2,3 та 1,9 разу відповідно, і нівелювання статистично вірогідних відмінностей за цим показником з інтактними тваринами. Відомо, що АЦЦ проявляє антиоксидантні властивості, що зумовлено зв'язуванням його сульфгідрильними групами хімічних радикалів і, таким чином, знешкодженням їх. Крім того, АЦЦ сприяє підвищенню синтезу глутатіону – важливого фактора хімічної детоксикації. Ця особливість АЦЦ дає змогу ефективно застосовувати останній при гострих отруєннях парацетамолом та іншими токсичними речовинами (альдегідами, фенолами та ін.). Можливо такі ж механізми детоксикації притаманні і КЕП, що підтверджувалось високими показниками зростання АПІ.

Зниження явищ цитолізу під впливом КЕП відзначалось статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням активності АлАт та АсАт відповідно на 44,0% та 29,6%. Варто відзначити, що на тлі застосування КЕП, на відміну від АЦЦ, відмічено статистично вірогідне ($p = 0,01$) зростання на 27,3% значення коефіцієнта де Рітиса, що вказує на відновлення метаболічної рівноваги у печінці, адже відомо, що АлАт відображає рівень анаболізму, а АсАт – рівень катаболізму. За здатністю знижувати вміст прямого білірубіну в сироватці крові щурів з

парацетамоловим гепатитом досліджувані засоби були зіставлюваними – рівень прямого білірубіну статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 52,5% на тлі введення КЕП, та статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 55,3% на тлі застосування АЦЦ, що свідчило про нормалізацію жовчоутворюючої та жовчовидільної функції печінки.

Таким чином, на моделях токсичного ураження печінки встановлено, що КЕП має виразні детоксикаційні та гепатопротекторні властивості, що проявлялось у нівелюванні функціональних та метаболічних розладів та стимуляції репаративних процесів у печінці за рахунок активації компенсаторних можливостей організму, а саме: у зменшенні активації ПОЛ у гепатоцитах та регресії ознак синдрому цитолізу, як показника відновлення клітин при деструктивно-запальному процесі; у зменшенні проявів холестазу з відновленням фізіологічного співвідношення прямого та непрямого білірубіну; у нормалізації енергетичного обміну в тканині печінки, що свідчить про енергостабілізуючу дію КЕП на гепатоцити щурів; у відновленні білоксинтезуючої функції печінки, як результату нормалізації балансу між катаболічними та анаболічними процесами.

Комбіноване нарізне введення езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу щурам зі змодельованим хронічним ЕТХМ ураженням печінки викликало пригнічення системи антиоксидантного захисту, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження активності каталази на 38,4% та зниження АПІ на 35,1% ($p < 0,001$), відносно показників інтактних щурів.

На тлі комбінованого введення КЕП та досліджуваних противиразкових засобів вміст ТБК-РП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 62,6% відносно показників інтактних щурів, а активність каталази в гомогенатах печінки зросла до $2,2 \pm 0,07$ мкат/кг тканини, що порівнювалось з показниками інтактних щурів.

Найвиразніша активація процесів ПОЛ відмічена у самиць на тлі хронічного ЕТХМ-індукованого ураження печінки та введення противиразкових препаратів після оваріоектомії, у яких вміст ТБК-РП становив $36,1 \pm 2,79$ мкмоль/кг тканини. Комбіноване застосування противиразкових препаратів та кріоекстракту плаценти на тлі хронічного ЕТХМ нівелювало активацію процесів ПОЛ, на що вказував статистично вірогідно ($p < 0,001$) нижчий вміст ТБК-РП у гомогенатах печінки у 2,7 разу.

У щурів-самців КЕП меншою мірою проявляв здатність модулювати активацію ПОЛ у тканинах печінки на тлі хронічного ЕТХМ та введення противиразкових препаратів, а найвиразніша його антиоксидантна активність відмічена у щурів-самців після тесектомії – рівень ТБК-РП був нижчим на 57,1% ($p < 0,001$).

Окрім зростаючої антибіотикорезистентності *Helicobacter pylori*, безконтрольне застосування антибактеріальних ЛЗ, особливо у високих дозах у складі ерадикаційних схем, збільшує ризик розвитку їх дозозалежних та/або дозозалежних небажаних лікарських реакцій, а також власних взаємодій. Одним з найпоширеніших побічних ефектів антихелікобактерних антибактеріальних засобів є гепатотоксичність [161, 203]. Так, добре відомо, що кларитроміцин є сильним інгібітором цитохрому СYP3A4 та може викликати холестатичний гепатит [81, 161]. Не менш гепатотоксичним є й метронідазол – протипротозойний та протимікробний препарат, який було найпершим запропоновано у якості антихелікобактерного засобу ще у 1989 р. В основі механізму гепатотоксичності метронідазолу є інгібування СYP2C9 фази I метаболізму [81, 161]. Зважаючи на участь системи цитохрому у розвитку гепатотропних ефектів антихелікобактерних антибактеріальних засобів та літературні відомості щодо статевого диморфізму активності системи цитохрому, особливу увагу привертає вивчення ефективності

сучасних гепатопротекторів крізь призму гендерного детермінізму [110, 138].

На моделі хронічного ЕТХМ встановлено направленість змін у системі ПОЛ-АОС, які вказують на здатність семиденного введення трикомпонентної противиразкової терапії (Е/К/М) викликати порушення в бік виснаження АОС гепатоцитів на тлі хронічного ЕТХМ ураження, що вказує на зниження компенсаторних можливостей системи антиоксидантного захисту та розбалансування в системі ПОЛ-АОС на тлі хронічного токсичного ураження печінки.

Введення езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу при хронічному ураженні печінки у тварин супроводжувалось пригніченням АОС, на що вказувало зниження активності каталази у тканинах печінки. Встановлено, що введення КЕП супроводжувалось статистично вірогідним зростанням активності каталази у самиць виразніше, ніж у самців. Так у самиць без зміни гормонального статусу введення КЕП викликало зростання ($p < 0,001$) активності каталази на 75,0%, а найвиразніше вказаний показник збільшився у самиць після оваріоектомії – активність каталази статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла у 2,6 разу відносно показників самиць, яким КЕП не вводили.

Вказані зміни з боку рівня ТБК-РП та активності каталази у щурів з хронічним ураженням печінки на тлі введення КЕП призвели до зростання АПІ як у самців, так і у самиць, проте у самиць відмічене більш виразне зростання вказаного показника. Так, у самиць щурів без зміни гормонального статусу з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М та КЕП, рівень АПІ статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс у 8,5 разу відносно показників тварин, яким КЕП не вводили, в той час як у щурів-самців без зміни гормонального статусу аналогічний показник зріс на тлі введення КЕП лише у 4,2 разу.

Варто зазначити, що введення КЕП приводило до нівелювання порушення білоксинтезуючої функції печінки у тварин з ЕТХМ, яким вводили противиразкові засоби. Введення

КЕП привело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зростання рівня ЗБ на 30,8% у самців та на 33,9% у самиць без зміни гормонального статусу на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М.

З метою оцінки деструктивних процесів у тканинах печінки проведено дослідження активності ЛФ у периферичній крові, адже, як відомо, вказаний ензим міститься, зокрема, у стінках жовчних протоків печінки та відображає їх цілісність. Встановлено, що на тлі розвитку ЕТХМ та введення Е/К/М, відмічалось зіставлюване підвищення рівня ЛФ у периферичній крові як у самців, так і у самиць, та становили відповідно 4,8 мкмоль/л та 5,3 мкмоль/л. Введення КЕП супроводжувалось виразним зниженням рівня ЛФ, що відмічене у самиць щурів з ЕТХМ, яким вводили Е/К/М, естрадіолу гемігідрат та КЕП – вказаний показник статистично вірогідно ($p < 0,001$) зменшився на 60,8% відносно показників самиць-щурів, яким КЕП не вводили. В той же час, у щурів-самців рівень ЛФ на тлі ЕТХМ та введення Е/К/М і КЕП знизився на 47,4% на тлі гонадектомії відносно показників щурів, яким КЕП не вводили, що вказує на ослаблення деструктивних процесів, викликаних введенням CCl_4 , етанолу та противиразкових засобів.

На тлі розвитку АГ у щурів відмічалось зростання ($p < 0,001$) рівня загального білірубіну на 148,9%, зростання вмісту ТБК-РП ($p < 0,001$) на 172,5%, зниження ($p = 0,004$) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% ($p = 0,4$) активності каталази.

За здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АГ досліджувані біологічні препарати можна розташувати у такій послідовності (за % зниження загального білірубіну відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (52,6%; $p < 0,001$) > КЕП (49,6%; $p < 0,001$) > КЕС (40,2%; $p < 0,001$).

За здатністю відновлювати баланс у системі ПОЛ-АОС досліджувані біотехнологічні препарати можна розташувати у такій послідовності (% зростанні АПІ відносно показників

тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$).

На тлі розвитку АГ у щурів відмічено формування цитолітичного синдрому, на що вказувало статистично вірогідне зростання рівня АлАт на 66,7% ($p=0,015$) та зростання рівня АсАт на 85,0% ($p<0,001$) відносно аналогічних показників інтактних тварин, що супроводжувалося статистично вірогідним ($p=0,002$) зростанням на 52,3% активності γ -ГТП та зростанням ($p=0,01$) на 36,5% активності ЛФ.

Застосування досліджуваних безклітинних засобів привело до виразного ослаблення ознак цитолітичного синдрому у щурів з АГ. Найвиразніше рівень АлАт знизився на тлі застосування КЕП та КС-МСК – активність вказаного ензиму знизилась відповідно на 35,0% ($p<0,05$) в обох випадках, активність АсАт найвиразніше статистично вірогідно ($p<0,001$) знизилась на тлі застосування КС-МСК. Найвиразніше зниження активності γ -ГТП відмічено на тлі введення КЕП та КС-МСК – активність знизилась відповідно на 27,1% ($p=0,024$) та на 27,4% ($p=0,012$) відносно показників щурів контрольної групи. Найвиразніше зниження активності ЛФ у щурів з АГ відмічено на тлі введення КС-МСК – на 27,9% ($p=0,009$) відносно показників нелікованих щурів з АГ.

У щурів з АГ відмічено порушення синтезу білка печінкою, на що вказувало статистично вірогідне ($p=0,03$) зниження рівня ЗБ у сироватці крові на 10,4%, зниження рівня альбуміну ($p<0,001$) на 30,0% та зниженн ($p=0,1$) рівня глобулінів на 13,2% відносно показників у інтактних тварин. Встановлене непропорційне зниження за окремими фракціями ЗБ призвело до статистично вірогідного ($p=0,003$) зниження А/Г-співвідношення на 38,5% відносно показників інтактних щурів. На тлі застосування КС-МСК рівень ЗБ статистично вірогідно ($p<0,001$) зріс на 20,2% відносно показників тварин групи контролю та становив $72,1\pm 1,6$ г/л, що на 14,3% статистично вірогідно перевищувало ($p=0,01$) аналогічний показник тварин, яким вводили референс-препарат силібор. За

здатністю відновлювати рівень А/Г-співвідношення у щурів з АІГ досліджувані безклітинні біологічні засоби можна розташувати у такій послідовності: КЕС (72,9%; $p=0,003$) > КС-МСК (51,7%; $p=0,005$) > КЕП (36,2%; $p=0,009$).

Розвиток АІГ у щурів супроводжувався статистично вірогідним зниженням рівня АТФ на 55,1% ($p<0,001$) та зниженням рівня АДФ на 57,1% ($p=0,1$), а також зростанням у 2,6 рази ($p<0,01$) рівня АМФ у гепатоцитах відносно показників інтактних щурів. За здатністю відновлювати енергетичний баланс у гепатоцитах щурів з АІГ досліджувані безклітинні біологічні препарати доцільно розташувати у такій послідовності (за % зміни рівня АЕЗ відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (+65,8%; $p<0,001$) > КЕП (+41,7%; $p<0,01$) > КЕС (+37,3%; $p<0,01$).

ДНК-цитометрія показала, що застосування біотехнологічних препаратів привело до відновлення індукованих АІГ порушень клітинного циклу гепатоцитів. Встановлено, що за здатністю зменшувати частку гепатоцитів з фрагментованою ДНК (SubG0G1), досліджувані безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби доцільно розташувати у такій послідовності (за % зменшення кількості гепатоцитів з фрагментованою ДНК відносно показників щурів контрольної групи): КС-МСК (71,2%; $p<0,001$) > КЕП (50,0%; $p<0,001$) > КЕС (45,4%; $p<0,001$).



СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abdualmjid RJ, Sergi C. Hepatotoxic botanicals – an evidence-based systematic review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;16(3):376–404. DOI: <https://doi.org/10.18433/j36g6x>
2. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*. 1984;105:121–6. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
3. Alabi QK, Akomolafe RO, Olukiran OS, Adeyemi WJ, Nafiu AO, Adefisayo MA, Omole JG, Kajewole DI, Odujoko OO. The *Garcinia kola* biflavonoid kolaviron attenuates experimental hepatotoxicity induced by diclofenac. *Pathophysiology*. 2017;24(4):281–90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2017.07.003>
4. Alempijevic T, Zec S, Milosavljevic T. Drug-induced liver injury: Do we know everything? *World Journal of Hepatology*. 2017;9(10):491–502.
5. Ali BH, Ben Ismail TH, Basir AA. Sex difference in the susceptibility of rats to gentamicin nephrotoxicity: influence of gonadectomy and hormonal replacement therapy. *Indian Journal of Pharmacology*. 2001;33:369–73.
6. Aloisi AM, Ceccarelli I, Fiorenzani P. Gonadectomy affects hormonal and behavioral responses to repetitive nociceptive stimulation in male rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003;1007:232–7. DOI: <https://doi.org/10.1196/annals.1286.022>
7. Alqahtani FY, Aleanizy FS, Tahir EE, Alquadeib BT, Alsarra IA, Alanazi JS, Abdelhady HG. Preparation, characterization, and antibacterial activity of diclofenac-loaded chitosan nanoparticles. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2019;27(1):82–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.08.001>

8. Amacher DE. Female gender as a susceptibility factor for drug-induced liver injury. *Human & Experimental Toxicology*. 2014;33(9):928–39. DOI: <https://doi.org/10.1177/0960327113512860>
9. Andrade RJ, Chalasani N, Bjornsson ES, Suzuki A, Kullak-Ublick GA, Watkins PB, Devarbhavi H, Merz M, Lucena MI, Kaplowitz N, Aithal GP. Drug-induced liver injury. *Nature Reviews Disease Primers*. 2019;5(1):58. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0105-0>
10. Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M. Concise Review: mesenchymal stem cells: from roots to boost. *Stem Cells*. 2019;37(7):855–64. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.3016>
11. Arjmand B, Goodarzi P, Aghayan HR, Payab M, Rahim F, Alavi-Moghadam S, et al. Co-transplantation of human fetal mesenchymal and hematopoietic stem cells in type 1 diabetic mice model. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10:761. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00761>
12. Asakawa T, Matsushita S. coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980;15(3):137–40.
13. Atkinson DE. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism. The metabolic roles of citrate. London and New York, 1968:23–40.
14. Avelar CR, Pereira EM, Farias Costa PR, Jesus RP, Oliveira LPM. Effect of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: Systematic review with meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. 2017;23(27):5004–17. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i27.5004>
15. Babinets LS. Current provisions of the European (Finnish) clinical protocol for the management of patients with viral hepatitis in the practice of primary doctors and lecturers. *Modern gastroenterology*. 2020;6:52–9. DOI: <https://doi.org/10.30978/MG-2020-6-52>
16. Badmus OO, Hillhouse SA, Anderson CD, Hinds TD, Stec DE. Molecular mechanisms of metabolic associated fatty liver disease (MAFLD): functional analysis of lipid metabolism pathways. *Clinical Science*. 2022;136(18):1347–66. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20220572>
17. Bakondi B, Shimada IS, Perry A, Munoz JR, Ylostalo J, Howard AB, Gregory CA, Spees JL. CD133 identifies a human bone marrow stem/progenitor cell sub-population with a repertoire of

- secreted factors that protect against stroke. *Molecular Therapy*. **2009**;17:1938–47. DOI: <https://doi.org/10.1038/mt.2009.185>
18. Bazoobandi S, Tanideh N, Rahmanifar F, Zare S, Koochi-Hosseiniabadi O, Razeghian-Jahromi I, Dianatpour M, Ahmadi M, et al. Preventive effects of intrauterine injection of bone marrow-derived mesenchymal stromal cell-conditioned media on uterine fibrosis immediately after endometrial curettage in rabbit. *Stem Cells International*. **2020**;2020:8849537. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8849537>
 19. Bepalova IG, Rogoza LA, Galchenko SY, Sandomyrsky BP. Extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and piglet skin affect the healing of cold wounds in rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2015**;25(2):151–61. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.02.151>
 20. Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphate with five cubic millimeters of serum. *The Journal of Biological Chemistry*. **1946**;164:321–329.
 21. Bhang SH, Lee S, Shin JY, Lee TJ, Jang HK, Kim BS. Efficacious and clinically relevant conditioned-medium of human adipose-derived stem cells for therapeutic angiogenesis. *Molecular Therapy*. **2014**;22(4):862.
 22. Bjornsson HK, Bjornsson ES. Drug-induced liver injury: Pathogenesis, epidemiology, clinical features, and practical management. *European Journal of Internal Medicine*. **2022**;97:26–31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2021.10.035>
 23. Bligh EG, Dyer WI. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. **1959**;37(8):911–7.
 24. Byzov VV, Sandomirsky BP. Possibilities of using xenospleen in clinical practice. *International medical journal*. **2004**;10(1):107–10.
 25. Byzov VV. The use of cryopreserved xenospleen fragments in the treatment of patients with purulent processes in the lungs and pleura. *Problems of cryobiology*. **2000**;1:81–5.
 26. Byzov VV. Treatment of purulent-destructive lung diseases. *Ukrainian therapeutic magazine*. **2001**;3(2):55–7.
 27. Cantinieaux D, Quertainmont R, Blacher S, Rossi L, Wanet T, Noel A, Brook G, Schoenen J, et al. Conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves recovery after spinal cord injury in rats: an original strategy to avoid cell

- transplantation. *PLoS ONE*. **2013**;8:e69515.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069515>
28. Caplan AI. Mesenchymal stem cells: time to change the name! *Stem Stem Cells Translational Medicine*. **2017**;6(6):1445–51.
DOI: <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051>
 29. Cavalieri ML, D'Agostino D. Drug-, herb- and dietary supplement-induced liver injury. *Archivos Argentinos de Pediatría*. **2017**;115(6):397–403.
DOI: <https://doi.org/10.5546/aap.2017.eng.e397>
 30. Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL. ACG Clinical Guideline: the diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury. *American Journal of Gastroenterology*. **2014**;109(7):950–66.
 31. Chang CP, Chio CC, Cheong CU, Chao CM, Cheng BC, Lin MT. Hypoxic preconditioning enhances the therapeutic potential of the secretome from cultured human mesenchymal stem cells in experimental traumatic brain injury. *Clinical Science*. **2013**;124:165–76. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20120226>
 32. Chang SN, Kim SH, Dey DK, Park SM, Nasif O, Bajpai VK, et al. 5-O-Demethylnobiletin Alleviates CCl₄-induced acute liver injury by equilibrating ROS-mediated apoptosis and autophagy induction. *International Journal of Molecular Sciences*. **2021**;22(3):1083. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22031083>.
 33. Chao X, Wang H, Jaeschke H, Ding WX. Role and mechanisms of autophagy in acetaminophen-induced liver injury. *Liver International*. **2018**;38(8):1363–1374.
DOI: <https://doi.org/10.1111/liv.13866>
 34. Chemych MD, Lyshnevskaya AH, Ivakhiv OL. Chronic viral hepatitis in Ukraine. Peculiarities of their course. *Problems. Problems of infectious diseases in the practice of an internist: modern aspects: materials of the All-Ukrainian scientific and practical conference. Sumy: Sumy State University*. **2019**:141–5.
 35. Chen Z, Song C, Yao Z, Sun J, Liu W. Associations between albumin, globulin, albumin to globulin ratio and muscle mass in adults: results from the national health and nutrition examination survey 2011-2014. *BMC Geriatrics*. **2022**;22(1):383.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12877-022-03094-4>
 36. Cho YJ, Song HS, Bhang S, Lee S, Kang BG, Lee JC, An J, Cha CI, et al. Therapeutic effects of human adipose stem cell-conditioned

- medium on stroke. *Journal of Neuroscience Research*. **2012**;90(9):1794–802. DOI: <https://doi.org/10.1002/jnr.23063>
37. Christen U, Hintermann E. Animal models for autoimmune hepatitis: are current models good enough? *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:898615. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2022.898615>
 38. Chuang TJ, Lin KC, Chio CC, Wang CC, Chang CP, Kuo JR. Effects of secretome obtained from normoxia-preconditioned human mesenchymal stem cells in traumatic brain injury rats. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. **2012**;73(5):1161–1167. DOI: <https://doi.org/10.1097/TA.0B013E318265D128>
 39. Clinton JW, Kiparizoska S, Aggarwal S, Woo S, Davis W, Lewis JH. Drug-induced liver injury: highlights and controversies in the recent literature. *Drug Safety*. **2021**;44(11):1125–49. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40264-021-01109-4>
 40. Dahbour S, Jamali F, Alhattab D, Al-Radaideh A, Ababneh O, Al-Ryalat N, Al-Bdour M, Hourani B, et al. Mesenchymal stem cells and conditioned media in the treatment of multiple sclerosis patients: clinical, ophthalmological and radiological assessments of safety and efficacy. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. **2017**;23:866–74. DOI: <https://doi.org/10.1111/cns.12759>
 41. D'Amico G, De Franchis R. Cooperative itudy proup. Upper digestive bleeding in cirrhosis. Post-therapeutic outcome and prognostic indicators. *Hepatology*. **2003**;38(3):599–612. DOI: <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50385>
 42. Darzynkiewicz Z, Halicka HD, Zhao H. Analysis of cellular DNA content by flow and laser scanning cytometry. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **2010**;676:137–47. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6199-0_9
 43. De la Fuente IM, Cortes JM, Valero E, Desroches M, Rodrigues S, Malaina I, Martinez L. On the dynamics of the adenylate energy system: homeorhesis vs homeostasis. *PloS one*. **2014**;9(10);e108676. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108676>
 44. Dominguez-Luis M, Herrera-García A, Arce-Franco M, Armas-Gonzalez E, Rodríguez-Pardo M, Lorenzo-Diaz F, Feria M, Cadenas S, Sanchez-Madrid F, Diaz-Gonzalez F. Superoxide anion mediates the L-selectin down-regulation induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs in human neutrophils. *Biochemical Pharmacology*. **2013**;85(2):245–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.10.024>

45. Du Z, Wei C, Cheng K, Han B, Yan J, Zhang M, Peng C, Liu Y. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces liver injury and enhances regeneration in reduced-size rat liver transplantation. *Journal of Surgical Research*. 2013;183:907–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.02.009>
46. Duncan FE, Slawson C. The sweet side of the cell cycle. *Biochemical Society Transactions*. 2017;45(2):313–22. DOI: <https://doi.org/10.1042/BST20160145>
47. Fasano R, Malerba E, Prete M, Solimando AG, Buonavoglia A, Silvestris N, Leone P, Racanelli V. Impact of antigen presentation mechanisms on immune response in autoimmune hepatitis. *Frontiers in Immunology*. 2022;12:814155. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2021.814155>
48. Floreani A, Bizzaro D, Shalaby S, Taliani G, Burra P; Special Interest Group Gender in Hepatology of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF). Sex disparity and drug-induced liver injury. *Digestive and Liver Disease*. 2023;55(1):21–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2022.06.025>
49. Forbes SJ, Newsome PN. Liver regeneration – mechanisms and models to clinical application. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13(8):473–85. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.97>
50. Galchenko SE, Uzlenkova NE, Sleta IV, Sandomirsky BP. Effect of extracts of cryopreserved fragments of xenoorgans on the growth of Geren's tumor. *Experiment and the clinic medicine*. 2005;1:17–20.
51. Galchenko SE. Extracts of cryopreserved fragments of xenoorgans: procurement and biological effect. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2005;15(3):403–6.
52. Garcia-Cortes M, Garcia-Garcia A. Management of pharmacologic adverse effects in advanced liver disease. *Clinical Drug Investigation*. 2022;42:33–8. doi: <https://doi.org/10.1007/s40261-022-01150-w>
53. Garcia-Cortes M, Robles-Diaz M, Stephens C, Ortega-Alonso A, Lucena MI, Andrade RJ. Drug induced liver injury: an update. *Archives of Toxicology*. 2020;94(10):381–407. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00204-020-02885-1>
54. Gazdic M, Volarevic V, Arsenijevic N, Stojkovic M. Mesenchymal stem cells: a friend or foe in immune-mediated diseases. *Stem Cell*

- Reviews and Reports.* **2015**;11(2):280–7.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-014-9583-3>
55. Giannasi C, Niada S, Della Morte E, Casati S, Orioli M, Gualerzi A, Brini AT. Towards secretome standardization: identifying key ingredients of MSC-Derived therapeutic cocktail. *Stem Cells International.* **2021**;2021:3086122.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/3086122>
 56. Gieseke F, Bohringer J, Bussolari R, Dominici M, Handgretinger R, Muller I. Human multipotent mesenchymal stromal cells use galectin-1 to inhibit immune effector cells. *Blood.* **2010**;116(19):3770–9. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-270777>
 57. Goldberg DS, Fallon MB. The art and science of diagnosing and treating lung and heart disease secondary to liver disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* **2015**;13(12):2118–27.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.04.024>
 58. Golubinskaya PA, Sarycheva MV, Dolzhikov AA, Bondarev VP, Stefanova MS, Soldatov VO, Nadezhdin SV, Korokin MV, et al. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology.* **2020**;8(6):416–25.
DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>
 59. Grant CR, Liberal R, Holder BS, Cardone J, Ma Y, Robson SC, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. Dysfunctional CD39(POS) regulatory T cells and aberrant control of T-helper type 17 cells in autoimmune hepatitis. *Hepatology.* **2014**;59(3):1007–15.
DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.26583>
 60. Gromova OA, Torshin IYu, Dibrova EA, Karimova IM, Gilels AV, Kustova EV. World-wide experience of the use of placental extracts: results of clinical and experimental studies. Review. *Plastic Surgery and Cosmetology.* **2011**;(3):385–576.
 61. Gunawardena TNA, Rahman MT, Abdullah BJJ, Kasim NHA. Conditioned media derived from mesenchymal stem cell cultures: the next generation for regenerative medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* **2019**;13(4):569–86.
DOI: <https://doi.org/10.1002/TERM.2806>
 62. Gupta A, Kumar R, Ganguly R, Singh AK, Rana HK, Pandey AK. Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective activities of Terminalia bellirica and its bioactive component ellagic acid against diclofenac-induced oxidative stress and hepatotoxicity.

63. Hamilton LA, Collins-Yoder A, Collins RE. Drug-induced liver injury. *AACN Advanced Critical Care.* 2016;27(4):430–440. doi: <https://doi.org/10.4037/aacnacc2016953>
64. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells.* 2019;8:886. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells8080886>
65. Harding C, Heuser J, Stahl P. Endocytosis and intracellular processing of transferrin and colloidal gold-transferrin in rat reticulocytes: demonstration of a pathway for receptor shedding. *European Journal of Cell Biology.* 1984;35(2):256–63.
66. Harold F. Stils, adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants, *Institute for Laboratory Animal Research Journal.* 2005;46(3):280–93. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280>
67. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells.* 2019;8(5):467. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells8050467>
68. Hassan RA, Hozayen WG, Abo Sree HT, Al-Muzafar HM, Amin KA, Ahmed OM. Naringin and hesperidin counteract diclofenac-induced hepatotoxicity in male Wistar rats via their antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic activities. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2021;2021:9990091. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9990091>
69. Hoekstra LT, de Graaf W, Nibourg GA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, van Gulik TM. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Annals of Surgery.* 2013;257(1):27–36. DOI: <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31825d5d47>
70. Hofmann J, Hackl V, Esser H, Meszaros AT, Fodor M, Ofner D, et al. Cell-based regeneration and treatment of liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021;22(19):10276. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms221910276>
71. Horst AK, Neumann K, Diehl L, Tiegs G. Modulation of liver tolerance by conventional and nonconventional antigen-presenting cells and regulatory immune cells. *Cellular & Molecular*

- Immunology*. **2016**;13(3):277–92.
DOI: <http://doi.org/10.1038/cmi.2015.112>
72. Huang X, Halicka HD, Traganos F, Tanaka T, Kurose A, Darzynkiewicz Z. Cytometric assessment of DNA damage in relation to cell cycle phase and apoptosis. *Cell Proliferation*. **2005**;38(4):223–43. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2005.00344.x>
73. Ivanisova D, Bohac M, Culenova M, Smolinska V, Danisovic L. Mesenchymal-stromal-cell-conditioned media and their implication for osteochondral regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. **2023**;24(10):9054. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24109054>
74. Jaeschke H, Akakpo JY, Umbaugh DS, Ramachandran A. Novel therapeutic approaches against acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *Toxicological Sciences*. **2020**;174(2):159–67. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfaa002>
75. Jaffe M. Concerning both the precipitation caused in normal urine by picric acid and a new reaction with creatinine. *Zeitschrift Fuer Physiologische Chemie*. **1886**;10:391–400.
76. Joshi SA, Shaikh S, Ranpura S, Khole VV. Postnatal development and testosterone dependence of a rat epididymal protein identified by neonatal tolerization. *Reproduction*. **2003**;125(4):3495–507. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250495>
77. Jung SH, Lee W, Park SH, Lee KY, Choi YJ, Choi S, Kang D, Kim S, Chang TS, Hong SS, Lee BH. Diclofenac impairs autophagic flux via oxidative stress and lysosomal dysfunction: Implications for hepatotoxicity. *Redox Biology*. **2020**;37:101751. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101751>
78. Kalas MA, Chavez L, Leon M, Taweeseedt PT, Surani S. Abnormal liver enzymes: a review for clinicians. *World Journal of Hepatology*. **2021**;13(11):1688–98. DOI: <https://doi.org/10.4254/wjh.v13.i11.1688>
79. Kalra H, Drummen GP, Mathivanan S. Focus on extracellular vesicles: introducing the next small big thing. *International Journal of Molecular Sciences*. **2016**;17(2):170. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17020170>
80. Kamalaporn P, Sobhonslidsuk A, Jatchavala J, Atisook K, Rattanasiri S, Pramoolsinsap C. Factors predisposing to peptic ulcer disease in asymptomatic cirrhotic patients. *Alimentary*

- Pharmacology & Therapeutics*. 2005;21(12):1459–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02507.x>
81. Kancherla D, Gajendran M, Vallabhaneni P, Vipperla K. Metronidazole induced liver injury: a rare immune mediated drug reaction. *Case Reports in Gastrointestinal Medicine*. 2013;2013:568193. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/568193>
 82. Karlsen TH, Sheron N, Zelber-Sagi S, Carrieri P, Dusheiko G, Bugianesi E, et al. The EASL-Lancet liver commission: protecting the next generation of Europeans against liver disease complications and premature mortality. *Lancet*. 2022;399(10319):61–116. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01701-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01701-3)
 83. Kawai T, Katagiri W, Osugi M, Sugimura Y, Hibi H, Ueda M. Secretomes from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells enhance periodontal tissue regeneration. *Cytotherapy*. 2015;17:369–81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2014.11.009>
 84. Kay AG, Long G, Tyler G, Stefan A, Broadfoot SJ, Piccinini AM, Middleton J, Kehoe O. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces disease severity and immune responses in inflammatory arthritis. *Scientific Reports*. 2017;7:18019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18144-w>
 85. Kemelo MK, Wojnarova L, Kutinova Canova N, Farghali H. D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity downregulates sirtuin 1 in rat liver: role of sirtuin 1 modulation in hepatoprotection. *Physiological Research*. 2014;63(5):615–23. DOI: <https://doi.org/10.33549/physiolres.932761>
 86. Khavinson VK, Popovich IG, Linkova NS, Mironova ES, Ilina AR. Peptide regulation of gene expression: a systematic review. *Molecules*. 2021;26(22):7053. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26227053>
 87. Kim HO, Choi S-M, Kim H-S. Mesenchymal stem cell-derived secretome and microvesicles as a cell-free therapeutics for neurodegenerative disorders. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2013;10:93–101. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13770-013-0010-7>
 88. Kim KH, Sederstrom JM. Assaying cell cycle status using flow cytometry. *Current Protocols in Molecular Biology*. 2015;111:28.6.1-28.6.11. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2806s111>

89. Kirchner GI, Beil W, Bleck JS, Manns MP, Wagner S. Prevalence of *Helicobacter pylori* and occurrence of gastroduodenal lesions in patients with liver cirrhosis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. **2011**;4(1):26–31.
90. Koff RS, Connelly LJ. Modification of the hepatotoxicity of D-galactosamine in the rat by cycloheximide. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. **1976**;151(3):519–22. DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-151-39248>
91. Kohda H, Sekiya C, Kanai M, Yoshida Y, Uede T, Kikuchi K, Namiki M. Flow cytometric and functional analysis of mononuclear cells infiltrating the liver in experimental autoimmune hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology*. **1990**;82(3):473–8. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb05474.x>
92. Komori A. Recent updates on the management of autoimmune hepatitis. *Clinical and Molecular Hepatology*. **2021**;27(1):58–69. DOI: <http://doi.org/10.3350/cmh.2020.0189>
93. Koniusz S, Andrzejewska A, Muraca M, Srivastava AK, Janowski M, Lukomska B. Extracellular vesicles in physiology, pathology, and therapy of the immune and central nervous system, with focus on extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells as therapeutic tools. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. **2016**;10:109. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00109>
94. Koppen A, Joles JA, van Balkom BW, Lim SK, de Kleijn D, Giles RH, Verhaar MC. Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease. *PLoS ONE*. **2012**;7:e38746. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038746>
95. Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO. Modulation of lipid peroxidation and energy metabolism in the gastric mucosa as a mechanism of antiulcer activity of placental cryoextract in the healing of stress-induced ulcers. *Gastroenterology*. **2022**;56(3):149–55. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503>
96. Krueger PD, Lassen MG, Qiao H, Hahn YS. Regulation of NK cell repertoire and function in the liver. *Critical Reviews in Immunology*. **2011**;31(1):43–52. DOI: <http://doi.org/10.1615/critrevimmunol.v31.i1.40>
97. Kumachev A, Wu PE. Drug-induced liver injury. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*. **2021**;193(9):E310. DOI: <https://doi.org/10.1503/cmaj.202026>

98. Lai FW, Lichty BD, Bowdish DM. Microvesicles: ubiquitous contributors to infection and immunity. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015;97(2):237–45. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0513-292RR>
99. Lee AC, Harris JL, Khanna KK, Hong JH. A comprehensive review on current advances in peptide drug development and design. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(10):2383. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20102383>
100. Lee TH, Kim WR, Poterucha JJ. Evaluation of elevated liver enzymes. *Clinical Liver Disease*. 2012;16(2):183–98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cld.2012.03.006>
101. Leong RW, Chan FK. Drug-induced side effects affecting the gastrointestinal tract. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2006;5(4):585–92. DOI: <https://doi.org/10.1517/14740338.5.4.585>
102. Lewis DR, Chen HS, Cockburn MG, Wu XC, Stroup AM, Midthune DN, et al. Early estimates of SEER cancer incidence. *Cancer*. 2017;123(13):2524–34. DOI: <https://doi.org/10.1002/cncr.30630>
103. Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and function of the immune system in the spleen. *Science Immunology*. 2019;4(33):eaau6085. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau6085>
104. Li L, Ngo HT, Hwang E, Wei X, Liu Y, Liu J, Yi TH. Conditioned medium from human adipose-derived mesenchymal stem cell culture prevents UVB-induced skin aging in human keratinocytes and dermal fibroblasts. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;21:49. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21010049>
105. Liberal R, Grant CR, Holder BS, Cardone J, Martinez-Llordella M, Ma Y, Heneghan MA, Mieli-Vergani G, et al. In autoimmune hepatitis type 1 or the autoimmune hepatitis-sclerosing cholangitis variant defective regulatory T-cell responsiveness to IL-2 results in low IL-10 production and impaired suppression. *Hepatology*. 2015;62(3):863–75. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.27884>
106. Liberal R, Grant CR, Holder BS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. The impaired immune regulation of autoimmune hepatitis is linked to a defective galectin-9/tim-3 pathway. *Hepatology*. 2012;56(2):677–86. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.25682>

107. Liberal R, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2011;25(6):653–64. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bpg.2011.09.009>
108. Licata A, Minissale MG, Calvaruso V, Craxì A. A focus on epidemiology of drug-induced liver injury: analysis of a prospective cohort. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017;21:112–21.
109. Licata A. Adverse drug reactions and organ damage: The liver. *European Journal of Internal Medicine*. 2016;28:9–16.
110. Lonardo A, Nascimbeni F, Ballestri S, Fairweather D, Win S, Than TA, et al. Sex differences in nonalcoholic fatty liver disease: state of the art and identification of research gaps. *Hepatology*. 2019;70(4):1457–69. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.30626>
111. Longhi MS, Hussain MJ, Kwok WW, Mieli-Vergani G, Ma Y, Vergani D. Autoantigen-specific regulatory T cells, a potential tool for immune-tolerance reconstitution in type-2 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2011;53(2):536–47. DOI: <http://doi.org/10.1002/hep.24039>
112. Longhi MS, Ma Y, Bogdanos DP, Cheeseman P, Mieli-Vergani G, Vergani D. Impairment of CD4(+)CD25(+) regulatory T-cells in autoimmune liver disease. *Journal of Hepatology*. 2004;41(1):31–7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.03.008>
113. Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Regulatory T cells in autoimmune hepatitis: an updated overview. *Journal of Autoimmunity*. 2021;119:102619. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jaut.2021.102619>
114. Lv T, Li M, Zeng N, Zhang J, Li S, Chen S, Zhang C, Shan S, et al. Systematic review and meta-analysis on the incidence and prevalence of autoimmune hepatitis in Asian, European, and American population. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019;34(10):1676–1684. DOI: <http://doi.org/10.1111/jgh.14746>
115. Mackay IR, Cowling DC, Taft LI. Lupoid hepatitis. *Lancet*. 1956;271(6957):1323–6. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0140-6736\(56\)91483-0](http://doi.org/10.1016/s0140-6736(56)91483-0)
116. Mackay IR, Weiden S, Hasker J. Autoimmune hepatitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1965;124(2):767–80. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb19000.x>

117. Mackay IR. Historical reflections on autoimmune hepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3292–300. DOI: <http://doi.org/10.3748/wjg.14.3292>
118. Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of Translational Medicine*. 2014;12:260. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-014-0260-8>
119. Maguire G. Stem cell therapy without the cells. *Communicative & Integrative Biology*. 2013;6(6):e26631. DOI: <https://doi.org/10.4161/cib.26631>
120. Manuc T, Preda CM, Istratescu D, Gheorghe L, Cerban R, Ester C, Stroie TG, Alecu RI, et al. Sylmarin versus essential phospholipids in metabolic associated steatotic liver disease (MASLD) – a prospective comparative randomized trial. *Maedica (Bucur)*. 2024;19(1):9–16. DOI: <https://doi.org/10.26574/maedica.2024.19.1.9>
121. Marcellin P, Kutala BK. Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver International*. 2018;38(Suppl. 1):2–6. DOI: <https://doi.org/10.1111/liv.13682>
122. Marcellin P, Pequignot F, Delarocque-Astagneau E, Zarski JP, Ganne N, Hillon P, et al. Mortality related to chronic hepatitis B and chronic hepatitis C in France: evidence for the role of HIV coinfection and alcohol consumption. *Journal of Hepatology*. 2008;48(2):200–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.09.010>
123. Mazzini G, Ferrari C, Erba E. Dual excitation multifluorescence flow cytometry for detailed analyses of viability and apoptotic cell transition. *European Journal of Histochemistry*. 2003;47(4):289–98.
124. McAtee C. Drug-induced liver injury. *Critical Care Nursing Clinics of North America*. 2022;34(3):267–75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cnc.2022.04.007>
125. Mieli-Vergani G, Vergani D, Czaja AJ, Manns MP, Krawitt EL, Vierling JM, Lohse AW, Montano-Loza AJ. Autoimmune hepatitis. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4:18017. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrdp.2018.17>
126. Mishra PJ, Mishra PJ, Banerjee D. Cell-free derivatives from mesenchymal stem cells are effective in wound therapy. *World*

- Journal of Stem Cells.* **2012**;4:35–43.
DOI: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v4.i5.35>
- 127.** Miyajima A, Tanaka M, Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Cell Stem Cell.* **2014**;14(5):561–74.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>
- 128.** Mohan A, Agarwal S, Clauss M, Britt NS, Dhillon NK. Extracellular vesicles: novel communicators in lung diseases. *Respiratory Research.* **2020**;21(1):175.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01423-y>
- 129.** Mohi-Ud-Din R, Mir RH, Sawhney G, Dar MA, Bhat ZA. Possible pathways of hepatotoxicity caused by chemical agents. *Current Drug Metabolism.* **2019**;20(11):867–79.
DOI: <https://doi.org/10.2174/1389200220666191105121653>
- 130.** Montero-Vilchez T, Sierra-Sanchez A, Sanchez-Diaz M, Quinones-Vico MI, Sanabria-de-la-Torre R, Martinez-Lopez A, Arias-Santiago S. Mesenchymal stromal cell-conditioned medium for skin diseases: a systematic review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* **2021**;9:654210.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.654210>
- 131.** Mroskowiak A, Suleja A, Stec M, Kuczmik W, Migacz M, Holecki M. Autoimmune hepatitis-challenging diagnosis. *Medicina (Kaunas).* **2022**;58(7):896. DOI: <http://doi.org/10.3390/medicina58070896>
- 132.** Muriel P. The liver: general aspects and epidemiology. In: Muriel P., editor. *Liver pathophysiology: therapies and antioxidants.* Elsevier; Waltham, MA: **2017**;3–22.
- 133.** Neshat SY, Quiroz VM, Wang Y, Tamayo S, Doloff JC. Liver disease: induction, progression, immunological mechanisms, and therapeutic interventions. *International Journal of Molecular Sciences.* **2021**;22(13):6777.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22136777>
- 134.** Neuman MG, Malnick S, Chertin L. Gamma glutamyl transferase - an underestimated marker for cardiovascular disease and the metabolic syndrome. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* **2020**;23(1):65–74. DOI: <https://doi.org/10.18433/jpps30923>
- 135.** Notas G, Kisseleva T, Brenner D. NK and NKT cells in liver injury and fibrosis. *Clinical Immunology.* **2009**;130(1):16–26.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.clim.2008.08.008>

136. Osugi M, Katagiri W, Yoshimi R, Inukai T, Hibi H, Ueda M. Conditioned media from mesenchymal stem cells enhanced bone regeneration in rat calvarial bone defects. *Tissue Engineering Part A*. 2012;18:1479–89. DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0325>
137. Palmer M, Regev A, Lindor K, Avigan MI, Dimick-Santos L, Treem W, et al. Consensus guidelines: best practices for detection, assessment and management of suspected acute drug-induced liver injury occurring during clinical trials in adults with chronic cholestatic liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2020;51(1):90–109. DOI: <https://doi.org/10.1111/apt.15579>
138. Palmisano BT, Zhu L, Stafford JM. Role of estrogens in the regulation of liver lipid metabolism. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017;1043:227–56. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-70178-3_12
139. Pan SY, Chan MK, Wong MB, Klokol D, Chernykh V. Placental therapy: An insight to their biological and therapeutic properties. *Journal of Medicine and Therapeutics*. 2017;1(3):1–6. DOI: <http://doi.org/10.15761/JMT.1000118>
140. Parker GA, Picut CA. Immune functioning in non lymphoid organs: the liver. *Toxicologic Pathology*. 2012;40(2):237–47. DOI: <http://doi.org/10.1177/0192623311428475>
141. Pawitan JA. Prospect of stem cell conditioned medium in regenerative medicine. *BioMed Research International*. 2014;2014:965849. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/965849>
142. Pemberton PW, Aboutwerat A, Smith A, Burrows PC, McMahon RF, Warnes TW. Oxidant stress in type I autoimmune hepatitis: the link between necroinflammation and fibrogenesis? *Biochimica et Biophysica Acta*. 2004;1689(3):182–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.01.005>
143. Poddighe D, Maulenkul T, Zhubanova G, Akhmaldtinova L, Dossybayeva K. Natural Killer T (NKT) Cells in autoimmune hepatitis: current evidence from basic and clinical research. *Cells*. 2023;12(24):2854. DOI: <http://doi.org/10.3390/cells12242854>
144. Ra K, Park SC, Lee BC. Female reproductive aging and oxidative stress: mesenchymal stem cell conditioned medium as a promising antioxidant. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(5):5053. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24055053>

145. Railyan MV, Chumachenko TO, Makarova VI, Semishev VI. Acute hepatitis of unknown etiology: the task of epidemiological surveillance in Ukraine in modern conditions. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*. **2022**;7(37):21–6. DOI: <https://doi.org/10.26693/jmbs07.03.021>
146. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of Cell Biology*. **2013**;200(4):373–83. DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>
147. Ray G. Management of liver diseases: current perspectives. *World Journal of Gastroenterology*. **2022**;28(40):5818–26. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i40.5818>
148. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. **1957**;28(1):56–63.
149. Reuben A, Koch DG, Lee WM; Acute Liver Failure Study Group. Drug-induced acute liver failure: results of a U.S. multicenter, prospective study. *Hepatology*. **2010**;52(6):2065–76.
150. Rosenzwajg M, Lorenzon R, Cacoub P, Pham HP, Pitoiset F, El Soufi K, Ribet C, Bernard C, et al. Immunological and clinical effects of low-dose interleukin-2 across 11 autoimmune diseases in a single, open clinical trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **2019**;78(2):209–217. DOI: <http://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-214229>
151. Rosochowicz MA, Lach MS, Richter M, Suchorska WM, Trzeciak T. Conditioned medium – is it an undervalued lab waste with the potential for osteoarthritis management? *Stem Cell Reviews and Reports*. **2023**;19(5):1185–213. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-023-10517-1>
152. Safiri S, Kolahi AA, Noori M, Nejadghaderi SA, Karamzad N, Bragazzi NL, et al. Burden of anemia and its underlying causes in 204 countries and territories, 1990–2019: results from the Global Burden of Disease Study 2019. *Journal of Hematology & Oncology*. **2021**;14(1):185(1–16). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01202-2>
153. Sagaradze G, Grigorieva O, Nimiritsky P, Basalova N, Kalinina N, Akopyan Z, Efimenko A. Conditioned medium from human mesenchymal stromal cells: towards the clinical translation. *International Journal of Molecular Sciences*. **2019**;20:1656. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20071656>

154. Sagaradze GD, Basalova NA, Kirpatovsky VI, Ohobotov DA, Grigorieva OA, Balabanyan VY, Kamalov AA, Efimenko AY. Application of rat cryptorchidism model for the evaluation of mesenchymal stromal cell secretome regenerative potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;109:1428–1436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.174>
155. Said ES, Mohammed AH, Ali HM, Babiker AY, Alnughaymishi R, Althaeel NZ, et al. Evaluation of hepatoprotective effect of Nebivolol and sodium copper Chlorophyllin on CCl₄-induced hepatotoxicity in mice. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2022;26(5):1717–28. DOI: https://doi.org/10.26355/eurrev_202203_28241
156. Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, Tanaka A, Ichiyama K, Ohkura N. Regulatory T Cells and Human Disease. *Annual Review of Immunology*. 2020;38:541–566. DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041717>
157. Savio-Silva C, Beyerstedt S, Soinski-Sousa PE, Casaro EB, Balby-Rocha MTA, Simplicio-Filho A, Alves-Silva J, Rangel EB. Mesenchymal stem cell therapy for diabetic kidney disease: a review of the studies using syngeneic, autologous, allogeneic, and xenogeneic cells. *Stem Cells International*. 2020 DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8833725>
158. Scaglione S, Kliethermes S, Cao G, Shoham D, Durazo R, Luke A, et al. The epidemiology of cirrhosis in the United States: a population-based study. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2015;49(8):690–6. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCG.000000000000208>
159. Schmeltzer PA, Kosinski AS, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Stolz A, Fontana RJ, Russo MW; Drug-Induced Liver Injury Network (DILIN). Liver injury from nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the United States. *Liver International*. 2016;36(4):603–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/liv.13032>
160. Sekaran S, Vimalraj S, Thangavelu L. The physiological and pathological role of tissue nonspecific alkaline phosphatase beyond mineralization. *Biomolecules*. 2021;11(11):1564. DOI: <https://doi.org/10.1021/10.3390/biom11111564>
161. Shamberg L, Vaziri H. Hepatotoxicity of Inflammatory Bowel Disease Medications. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2018;52(8):674–84. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001084>

162. Shang G, Fei Z, Xu H, Wang Y, Xiang S. Globulin and albumin to globulin ratio precisely diagnose periprosthetic joint infection and determine the timing of second-stage reimplantation. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2022;17(1):12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02899-0>
163. Shen LH, Fan L, Zhang Y, Zhu YK, Zong XL, Peng GN, et al. Protective effect and mechanism of placenta extract on liver. *Nutrients*. 2022;14(23):5071. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14235071>
164. Shepitko KV. Application of cryopreserved placenta preparations in the small intestine pathologies in rats for their further use in exigent conditions. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2019;4(154):56–61. DOI: <http://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-4-2-154-56-61>
165. Soeters PB, Wolfe RR, Shenkin A. Hypoalbuminemia: Pathogenesis and Clinical Significance. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2019;43(2):181–93. DOI: <https://doi.org/10.1002/jpen.1451>
166. Solursh M, Meier S. A conditioned medium (CM) factor produced by chondrocytes that promotes their own differentiation. *Developmental Biology*. 1973;30(2):279–89. DOI: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(73\)90089-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(73)90089-4)
167. Su X, Liu Y, ElKashty O, Seuntjens J, Yamada KM, Tran SD. Human bone marrow cell extracts mitigate radiation injury to salivary gland. *Journal of Dental Research*. 2022;101(13):1645–53. DOI: <https://doi.org/10.1177/00220345221112332>
168. Su X, Upadhyay A, Tran SD, Lin Z. Cell-Free Therapies: The use of cell extracts to mitigate irradiation-injured salivary glands. *Biology (Basel)*. 2023;12(2):305. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology12020305>
169. Svetashev VI, Vaskovsky VE. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. *Journal of Chromatography*. 1972.67:376–8.
170. Syed M, Skonberg C, Hansen SH. Mitochondrial toxicity of diclofenac and its metabolites via inhibition of oxidative phosphorylation (ATP synthesis) in rat liver mitochondria: Possible role in drug-induced liver injury (DILI). *Toxicology In Vitro*. 2016;31:93–102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.11.020>

171. Szasz G. A kinetic photometric method for serum γ -glutamyltransferase. *Clinical Chemistry*. 1969;15(2):124–36.
172. Szasz G. New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie*. 1974;12(5):228–33.
173. Tajiri K, Shimizu Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(44):6774–85.
174. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663–76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
175. Talke H, Schubert G. E. Enzymatic urea determination in the blood and serum in Warburg optical test. *Klinische Wochenschrift*. 1965;41:174–5.
176. Tan EP, Duncan FE, Slawson C. The sweet side of the cell cycle. *Biochemical Society transactions*. 2017;45(2):313–22. <https://doi.org/10.1042/BST20160145>
177. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis. *Cellular & Molecular Immunology*. 2022;19(2):158–176. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41423-021-00768-8>
178. Thalakiriyawa DS, Jayasooriya PR, Dissanayaka WL. Regenerative potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Current molecular medicine*. 2022;22(2):98–119. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566524021666210211114453>
179. Thomson AW, Knolle PA. Antigen-presenting cell function in the tolerogenic liver environment. *Nature Reviews Immunology*. 2010;10(11):753–66. DOI: <http://doi.org/10.1038/nri2858>
180. Thorgersen EB, Barratt-Due A, Haugaa H, Harboe M, Pischke SE, Nilsson PH, et al. The role of complement in liver injury, regeneration, and transplantation. *Hepatology*. 2019;70(2):725–36. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.30508>
181. Tokuda K, Tanimoto K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. *Japanese Journal of Clinical Chemistry*. 1993;22(2):116–22.
182. Trams EG, Lauter CJ, Salem N Jr, Heine U. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochimica*

- et Biophysica Acta.* **1981**;645(1):63–70.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90512-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90512-5)
- 183.** Tran SD, Liu Y, Xia D, Maria OM, Khalili S, Wang RW, Quan VH, Hu S, et al. Paracrine effects of bone marrow soup restore organ function, regeneration, and repair in salivary glands damaged by irradiation. *PLoS One.* **2013**;8(4):e61632.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061632>
- 184.** Vaskovsky VE, Kostetsky EY, Vasendin IM. A universal reagent for phospholipid analysis. *Journal of Chromatography.* **1975**;114:129–41.
- 185.** Veronesi F, Borsari V, Sartori M, Orciani M, Mattioli-Belmonte M, Fini M. The use of cell conditioned medium for musculoskeletal tissue regeneration. *Journal of Cellular Physiology.* **2018**;233:4423–42.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26291>
- 186.** Vink KL, Schuurman W, van Gansewinkel R. Use of the caffeine reagent in direct spectrophotometry of bilirubin. *Clinical Chemistry.* **1986**;32(7):1389–93.
- 187.** Vogel HG. ed. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; **2008**. 2071 p.
- 188.** Wadhwa K, Pahwa R, Kumar M, Kumar S, Sharma PC, Singh G, Verma R, Mittal V, et al. Mechanistic insights into the pharmacological significance of Silymarin. *Molecules.* **2022**;27(16):5327.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27165327>
- 189.** Wang H, Feng X, Yan W, Tian D. Regulatory T Cells in autoimmune hepatitis: unveiling their roles in mouse models and patients. *Frontiers in Immunology.* **2020**;11:575572.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2020.575572>
- 190.** Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology.* **2003**;33(2):105–36.
DOI: <https://doi.org/10.1080/713611034>
- 191.** Xia X, Chan KF, Wong GT, Wang P, Liu L, Yeung BP, et al. Mesenchymal stem cells promote healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug-related peptic ulcer through paracrine actions in pigs. *Science Translational Medicine.* **2019**;11(516):1–14.
DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat7455>

192. 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.
193. Yang D, Wang W, Li L, Peng Y, Chen P, Huang H, Guo Y, Xia X, et al. The relative contribution of paracrine effect versus direct differentiation on adipose-derived stem cell transplantation mediated cardiac repair. *PLoS One*. 2013;8(3):e59020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059020>
194. Yang TJ, Dhanasekar K, Bhandari R, Muraleedharan D, Chirindoth SS, Kaur H, et al. Association of *Helicobacter Pylori* with development of peptic ulcer disease among cirrhotic patients: an evidence from population-based study. *Cureus*. 2021;13(11):e19315. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.19315>
195. Yimin M. HepaTox: The professional networking platform for promoting clinical and translational research of drug-induced liver injury in China. *Chinese Hepatology*. 2014;8:575–6.
196. Yuzurihara M, Ikarashi Y, Noguchi M, Kase Y. Involvement of calcitonin gene-related peptide in elevation of skin temperature in castrated male rats. *Urology*. 2003;62(5):947–51. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0090-4295\(03\)00587-9](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(03)00587-9)
197. Zar JH. Biostatistical analysis (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. 2014; 960 p.
198. Zgheib H, Wakil C, Shayya S, Mailhac A, Al-Taki M, El Sayed M, Tamim H. Utility of liver function tests in acute cholecystitis. *Annals of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*. 2019;23(3):219–27. DOI: <https://doi.org/10.14701/ahbps.2019.23.3.219>
199. Zhang Y, Zhang Z, Wu M, Zhang R. Advances and perspectives of responsive probes for measuring γ -glutamyl transpeptidase. *ACS Measurement Science Au Journal*. 2023;4(1):54–75. <https://doi.org/10.1021/acsmesuresciau.3c00045>
200. Zhao L, Tang Y, You Z, Wang Q, Liang S, Han X, Qiu D, Wei J, et al. Interleukin-17 contributes to the pathogenesis of autoimmune hepatitis through inducing hepatic interleukin-6 expression. *PLoS One*. 2011;6(4):e18909. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0018909>
201. Zhu W, Fung PC. The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCl₄-induced acute liver injury of mice. *Free Radical Biology and*

- Medicine. 2000;29(9):870–80. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(00\)00396-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00396-8)
202. Zivna H, Zivny P, Vokurkova D, Svejkovska K, Palicka V. The effect of chronic iron losses on liver regeneration in male and female rats. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky*. 2010;154(2):153–8. DOI: <https://doi.org/10.5507/bp.2010.023>
203. Zuckerman JM, Qamar F, Bono BR. Macrolides, ketolides, and glycyclines: azithromycin, clarithromycin, telithromycin, tigecycline. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2009;23(4):997–1026, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.06.013>
204. Беспалова ІГ. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят. *Дисертація*: к. біол. н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія, Харків, 2016. 162 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/>
205. Бизов ВВ. Одержання екстракту з кріоконсервованих фрагментів ксеноселезінки та його застосування при абсцесах легенів. *Дисертація*: к. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, 2002. 147 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0402U002111/>
206. Гальченко СЄ, Шкодовська НЮ, Сандомирський БП, Грищенко ВІ. Патент України № 64381. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів. № заявки 2003054649. Заявлено 22.05.2003; Опубл. 16.02.2004. Бюл. № 2.
207. Гальченко СЄ. Кріоконсервування фрагментів органів ссавців і біологічна дія одержаних з них водно-солевих екстрактів. *Дисертація*: д. біол. н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія, Харків, 2007. 277 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0507U000372/>
208. Ганчо ОВ. Вплив комплексів пептидів тваринного походження на імунітет за умов норми та різних функціональних станів організму. *Дисертація*: к. біол. н.: спец. 03.00.13 – Фізіологія людини і тварин, Полтава, 2002. 170 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0403U003416/>
209. Гладких ФВ, Белочкіна ІВ, Кошурба ІВ, Чиж МО. Сучасна гепатопротекція: нарративний огляд існуючих підходів та перспективи використання біотехнологічних препаратів.

- Сучасні медичні технології.* **2023**;3(58):58–65.
DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.3\(58\).2023.9](https://doi.org/10.34287/MMT.3(58).2023.9)
- 210.** Гладких ФВ. Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* **2024**;32(3):414–39
DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>
- 211.** Гладких ФВ. Імунні порушення при аутоімунному гепатиті: роль аутоантитіл, T-reg клітин та новітні терапевтичні підходи. *Буковинський медичний вісник.* **2024**;28(3):76–82.
DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.3.111.2024.13>.
- 212.** Гладких ФВ. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. *Клінічна та профілактична медицина.* **2023**;6(28):121–130.
DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>
- 213.** Гладких ФВ. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. *Вінниця: Твори;* **2022.** 216 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
- 214.** Гладких ФВ. Перспективи застосування імуномодуляторів у лікуванні хворих на аутоімунних захворювань: фокус на екстракти біологічних тканин (кріоекстракт плаценти та кріоекстракт селезінки). *Імунологія та алергологія: наука і практика.* **2023**;4:29–46.
DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>.
- 215.** Годован ВВ, Кресюн ВЙ. Галактозаміновий гепатит як модель вивчення морфофункціональних порушень клітинних мембран. *Одеський медичний журнал.* **2005**;3:11–5.
- 216.** Гольцев АН, ред. Плацента: криоконсервация, клиническое применение. Харьков; **2013.** 268 с.
- 217.** Грищенко НГ, Грищенко ВИ, Смольянинова ЕИ, Чернищенко ЛГ, Волкова НА. Влияние криоэкстракта плаценты на индукцию супероувляции у лабораторных мышей с хроническим воспалением яичников. *Проблеми кріобіології.* **2010**;20(3):327–37.
- 218.** Гулевский АК, Абакумова ЕУ, Моисеева НН, Долгих ОЛ. Влияние фракции пуповинной крови (до 5 кДа) крупного рогатого скота на биохимические показатели крови при

- експериментальної субхронічної язве желудка крыс. *Український біохімічний журнал*. 2008;80(2):120–7.
219. Гулида МО, Мирошниченко ЕВ, Березка НИ, Гарячий ЕВ. Применение экстракта плаценты в комплексном лечении больных ревматоидным артритом. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2014;1(62):168–71.
220. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». *Відомості Верховної Ради України*. 2006;27:230 (зі змінами). Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>
221. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. МЕДпресс-информ; 2009. 896 с.
222. Капустянська АА. Застосування препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» в комплексному лікуванні загострення подагричного артриту з метаболічним артритом. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медико-стоматологічної академії*. 2010;10.2(30):54–8.
223. Ковалев ГА, Высеканцев ИП, Ищенко ИЮ, Абрафикова ЛГ, Олефиренко АА, Сандомирский БП. Влияние криоконсервированной сыворотки кордовой крови и экстракта плаценты на заживление холодových ран. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2015;25(1):57–66.
224. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988;1:16–9.
225. Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Чиж МО. Модуляція ліпопероксидації та енергетичного обміну в слизовій оболонці шлунка як механізм активності кріоекстракту плаценти в загоєнні стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження. *Гастроентерологія*. 2022;56(3):149–55. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503>
226. Лихицкий АА. Влияние криоконсервированной плацентарной ткани на остеогенез в эксперименте при переломе нижней челюсти. *Клінічна стоматологія*. 2016;1(14):37–41.
227. Луценко НС, Прокопюк ОС, Бондаренко ИА, Гераскина ЛР, Евтарева ИА. Применение криоконсервированной

- плацентарної ткани при ізоімунізації вагітних жінок. *Проблеми кріобіології*. 2008;18(3):316–8.
228. Матвеев АВ. Гепатопротектори. Аналіз міжнародних досліджень з препаратами групи ліків для печінки. Сімферополь: Аріал, 2013. 384 с.
229. Насадюк ХМ. Біохімічна характеристика та підходи до застосування екстрактів плаценти в медичній практиці. *З турботою про жінку*. 2013;4(43):54–6.
230. Насібуллін БА, Гуца СГ, Олешко ОЯ, Бахолдіна ОІ, Кожем'якін ЮМ, Ярошенко НО. Робота з лабораторними тваринами: догляд та відтворення моделей патологічних станів (посібник). За заг. ред. Б.А. Насібулліна, С.Г. Гуці, О.Я. Олешко. Одеса: Поліграф; 2023. 96 с. Режим доступу: <https://kurort.gov.ua/wp-content/uploads/2024/05/posibnuk-tvarunu.pdf>
231. Олешко ОО, Слета ІВ, Гальченко СЄ. Лікування експериментального цирозу печінки екстрактами кріоконсервованих фрагментів печінки та селезінки. *Медицина транспорту України*. 2009;2:20–5.
232. Олешко ОО. Вплив кріодеструкції, екстрактів печінки і селезінки на відновні процеси в печінці при експериментальному цирозі. *Дисертація: к. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина*, Харків, 2008. 101 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0408U004142/>
233. Пентюк НО. Вплив гіпергомоцистеїнемії на формування ССІ₄-індукованого фіброзу печінки у щурів. *Сучасна гастроентерологія*. 2009;5(46):33–7.
234. Підгірний ВВ. Гепатотоксичні прояви лансопризолу, метронідазолу і кларитроміцину в експерименті. *Медицина хімія*. 2007;9(2):74–7.
235. Посохова КА, Вольська АС. Профілактика гепатотоксичної дії парацетамолу за допомогою тіотриазоліну та ацетилцистеїну. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012;5–6:134–8.
236. Прокопюк ВЮ, Трифонов ВЮ, Прокопюк ОС, Черемський АК, Зуб ЛІ. Клінічна ефективність прегравідарної підготовки жінок з антифосфоліпідним синдромом. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. 2011;(2):78–81.

237. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. *Ендокринологія*. 2003;8(1):142-5.
238. Рєпін МВ, Марченко ЛМ, Говоруха ТП, Васькович АМ, Строка ВІ, Кондаков ІІ та ін. Вплив попереднього введення кріоекстрактів плаценти різного походження на морфофункціональний стан нирок щурів при моделюванні гострої ниркової недостатності. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2017;2(75):37-43.
239. Рикало НА. Експериментальна модель хронічного тетрахлорметан-індукованого гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. 2009;9(2):116-8.
240. Розанова СЛ, Науменко ЕІ, Розанова ЕД, Нардид ОА. Изменение антиоксидантных свойств экстрактов плаценты человека после замораживания. *Проблемы криобиологии*. 2010;20(3):288-95.
241. Сандомирський БП, Гальченко СЄ, Бизов ВВ. та ін. Заготівля, кріоконсервування та клінічне застосування фрагментів селезінки свиней та екстракту з них. *Методичні рекомендації*. МОЗ України. Центр трансплантації органів, тканин та клітин; Харків; 2001. 9 с.
242. Сандомирський БП, Гальченко СЄ, Гальченко КС, Грищенко ВІ. Синчикова ОП, Шевченко ЛЄ. Патент України № 54055. Засіб для лікування ран "Кріосплін": ІПКіК НАН України. №2002043527; Заявл. 26.04.2002. Опубл. 17.02.2003. Бюл. № 2.
243. Соловійов СО, Трохименко ОП, Поліщук ВЮ, Піць ВВ, Василенко ВЮ, Василенко ЄЮ, Голь ІО, Симчук АА, Костюк ОВ. Моделювання *in vitro* впливу метаболітів лактобактерій на системну відповідь організму при кишковій вірусній інфекції. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2024;8(2):38-52. DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2024.8.2.306587>
244. Стефанов ОВ, ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена; 2001. 527 с.
245. Хворостов СД, Бичков СО, Олефіренко ОО, Слета ІВ, Сандомирський БП. Вплив кріодеструкції та тканинних екстрактів на відновні процеси в печінці при експериментальному цирозі. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина»*. 2009;36:143-7.

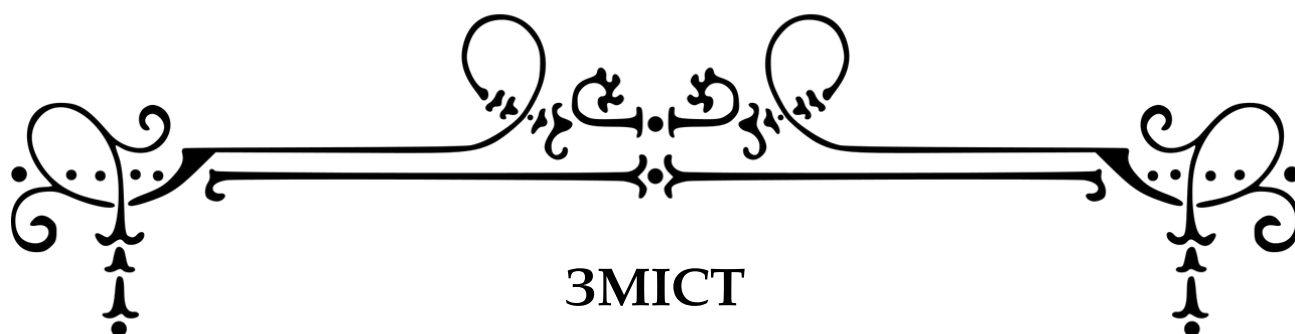
- 246.** Ходаківський ОА. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання нових похідних адамантану при експериментальній терапії гострої ішемії головного мозку та міокарда (експериментальне дослідження). *Дисертація: д. мед. н.: спец. 14.03.05 – Фармакологія, Вінниця, 2014. 297 с.* Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0515U000008/>
- 247.** Чевари С, Чаба, Секей Й. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело. 1985;11:678–81.*
- 248.** Чекман ІС, Поготова ГА, Небесна ТЮ, та ін. Квантово-фармакологічне дослідження антиоксидантних властивостей силімарину. *Український біофармацевтичний журнал. 2014;(2):24–8.*
- 249.** Шанайда МІ, Олещук ОМ, Лихацький ПГ, Кернична ІЗ. Дослідження гепатопротекторної активності рідкого екстракту трави Чаберу садового при тетрахлорметановому гепатиті. *Фармацевтичний часопис. 2017;2:91–7.* DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7899>
- 250.** Шевченко НО, Сомова КВ, Воліна ВВ, Прокопюк ВЮ, Прокопюк ОС. Динаміка активності та тривалості функціонування кріоконсервованих кріоекстракту, клітин та фрагментів плаценти в організмі експериментальних тварин. *Morphologia. 2016;10(2):93–8.*
- 251.** Шепітько ВІ. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів. *Дисертація: д. мед. н.: спец. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, 2004. 326 с.* Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/>



ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

А/Г	- альбумін-глобулінове співвідношення
АДФ	- аденозиндифосфорна кислота
АЕЗ	- аденілатний енергетичний заряд
АІГ	- аутоімунний гепатит
АлАТ	- аланінамінотрансфераза
АМФ	- аденозинмонофосфорна кислота
АОС	- антиоксидантна система
АПІ	- антиоксидантно-прооксидантний індекс
АсАТ	- аспартатамінотрансфераза
АТФ	- аденозинтрифосфорна кислота
АЦЦ	- ацетилцистеїн
ВХ	- виразкова хвороба
ДГА	- D-галактозамін
ДК	- дендритні клітини
Е/К/М	- езомепразол, кларитраміцин та метронідазол
ЕВ	- екстрацелюлярні везикули
ЕЗ	- енергетичний заряд
ЕТХМ	- етанол-тетрахлорметан-індуковане ураження печінки
ЗБ	- загальний білок
ІІ	- інтерлейкін
КЕП	- кріоконсервований екстракт (кріоекстракт) плаценти
КЕС	- кріоконсервований екстракт (кріоекстракт) селезінки
КС-МСК	- кондиціоноване середовище МСК
ЛЗ	- лікарські засоби

ЛФ	- лужна фосфатаза
Me	- медіана
МСК	- мезенхімальні (мультипотентні) стовбурові клітини
ПІ	- проліферативний індекс
ПОЛ	- перекисне окиснення ліпідів
СОД	- супероксиддисмутаза
ТБК-РП	- продукти, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою
ТХМ	- тетрахлорметан (CCl ₄)
95% ДІ:	- 95 % довірчий інтервал
CD	- cluster designation
COVID-19	- coronavirus disease 2019
CTL	- cytotoxic T lymphocyte
CXCL	- chemokine (C-X-C motif) ligand
HLA	- human leukocyte antigen
Ig	- імуноглобулін
LQ	- верхня межа нижнього квартиля (lower quartile)
m (SE)	- стандартна похибка середнього арифметичного
MHC	- major histocompatibility complex
Th	- лімфоцити Т-хелпери
TLR	- toll-подібний рецептор
T-reg	- регуляторні Т-клітини
UQ	- нижня межа верхнього квартиля (upper quartile)
γ-ГТП	- гамма-глутамілтранспептидаза



ПЕРЕДМОВА.....	3
Розділ 1	СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ГЕПАТОПРОТЕКЦІЇ ТА ПЕРСПЕКТИВИ БІОЛОГІЧНОЇ ТЕРАПІЇ... 5
1.1	Синтетичні та природні гепатопротектори у клінічній практиці..... 5
1.2	Аутоімунний гепатит – імуноопосередковане запальне захворювання печінки..... 11
1.2.1	Шляхи аутоімунної атаки гепатоцитів при аутоімунному гепатиті..... 12
1.2.2	Взаємодія між T-reg та іншими клітинами при аутоімунному ураженні печінки..... 15
1.3	Кріоконсервований екстракт плаценти (КЕП) як потенційний гепатозахисний засіб..... 21
1.4	Кріоекстракт селезінки (КЕС): біологічні властивості та технологія отримання..... 23
1.5	Кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) – інноваційний підхід до гепатопротекції при аутоімунному гепатиті 27
Розділ 2	ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОТРОПНОЇ ДІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ГОСТРИХ УРАЖЕННЯХ ПЕЧІНКИ 39
2.1	Вивчення гепатозахисних властивостей КЕП на моделі тетрахлорметан-індукованого гепатиту... 46
2.2	Оцінка гепатопротекторної дії КЕП на моделі D-галактозамінового гепатиту..... 56
2.3	Дослідження гепатозахисної дії КЕП при медикаментозних ураженнях печінки..... 64
2.3.1	Характеристика гепатозахисної дії КЕП на моделі парацетамолового гепатиту..... 65
2.3.2	Оцінка гепатозахисної дії КЕП на моделі диклофенак натрій-індукованого гепатиту..... 71

Розділ 3	ПОПЕРЕДЖЕННЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПРОТИВИРАЗКОВИХ ЗАСОБІВ ЗА ДОПО- МОГОЮ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ.....	77
3.1	Вплив КЕП на гепатотропні ефекти комбінованого застосування езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу на тлі хронічного етанолтетрахлорметан-індукованого ураження печінки.....	77
3.2	Статеві відмінності та вплив гонадектомії на гепатопротекторну дію КЕП.....	84
Розділ 4	ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ, КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ ТА КОНДИЦІОНОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ГЕПАТИТУ.....	102
4.1	Вплив КЕП, КЕС та КС-МСК на порушення пігментного обміну при АІГ.....	105
4.2	Цитолітичні процеси у печінці щурів з АІГ на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	108
4.3	Оцінка білковосинтезуючої функції печінки при АІГ у щурів на тлі введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	113
4.4	Антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз при АІГ у щурів після введення КЕП, КЕС та КС-МСК.....	117
4.5	Стан енергетичного обміну гепатоцитів при експериментальному АІГ та введенні КЕП, КЕС та КС-МСК.....	121
4.6	Характеристика клітинного циклу гепатоцитів при застосуванні КЕП, КЕС та КС-МСК на моделі АІГ.....	124
	УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	131
	СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	143
	ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	171



КОШУРБА Ілля Васильович

*доктор філософії в галузі охорони здоров'я,
лікар, головний спеціаліст управління моніторингу
Департаменту стратегії універсального
охоплення населення медичними послугами
Національної служби здоров'я України*

Автор близько 100 наукових праць,
у тому числі монографії та патенту
ORCID: [0000-0002-4595-9245](https://orcid.org/0000-0002-4595-9245)



ГЛАДКИХ Федір Володимирович

*доктор філософії в галузі охорони здоров'я,
лікар, старший науковий співробітник
Державної установи «Інститут медичної радіології
та онкології імені С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України»*

Автор понад 300 наукових праць,
у тому числі 5 монографій та 6 патентів
ORCID: [0000-0001-7924-4048](https://orcid.org/0000-0001-7924-4048)



ЛЯДОВА Тетяна Іванівна

*доктор медичних наук, професор, професор кафедри
інфекційних хвороб та клінічної імунології,
лікар, декан медичного факультету Харківського
національного університету імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України*

Автор понад 300 наукових праць,
у тому числі 4 посібників та 4 патентів
ORCID: [0000-0002-5892-2599](https://orcid.org/0000-0002-5892-2599)



ЧИЖ Микола Олексійович

*кандидат медичних наук, старший дослідник,
лікар, завідувач відділу
експериментальної кріомедицини
Інституту проблем кріобіології і кріомедицини
Національної академії наук України*

Автор понад 200 наукових праць,
у тому числі 4 монографій та 11 патентів
ORCID: [0000-0003-0085-296X](https://orcid.org/0000-0003-0085-296X)

Наукове видання

КОШУРБА

Ілля Васильович

ГЛАДКИХ

Федір Володимирович

ЛЯДОВА

Тетяна Іванівна

ЧИЖ

Микола Олексійович

Scientific publication

KOSHURBA

Illia Vasylovych

HLADKYKH

Fedir Volodymyrovych

LIADOVA

Tetyana Ivanivna

CHYZH

Mykola Oleksiiiovych

**ГЕПАТОПРОТЕКЦІЯ:
ІННОВАЦІЙНІ
СТРАТЕГІЇ ТА КЛІНІЧНІ
ПЕРСПЕКТИВИ
БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ
ПІДХОДІВ**

**HEPATOPROTECTION:
INNOVATIVE
STRATEGIES AND
CLINICAL PERSPECTIVES
OF BIOTECHNOLOGICAL
APPROACHES**

Монографія

Monograph

Підписано до друку 24.02.2025.
Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Друк цифровий.
Друк. арк. 11. Умов. друк. арк. 10,23.
Наклад 1000 прим. Зам. № 412/1.

Віддруковано ФОП Корзун Д.Ю. з оригіналів замовника.
Свідоцтво про державну реєстрацію фізичної особи-підприємця
серія В02 № 818191 від 31.07.2002 р.

Видавець ТОВ «ТВОРИ».
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів
видавничої продукції серія ДК № 6188 від 18.05.2018 р.
21034, м. Вінниця, вул. Немирівське шосе, 62а.
Тел.: 0 (800) 33-00-90, (096) 97-30-934, (093) 89-13-852, (098) 46-98-043.
e-mail: info@tvoru.com.ua
<http://www.tvoru.com.ua>



КОШУРБА Ілля Васильович

доктор філософії в галузі охорони здоров'я, лікар, головний спеціаліст управління моніторингу Департаменту стратегії універсального охоплення населення медичними послугами Національної служби здоров'я України

Автор близько 100 наукових праць,
у тому числі монографії та патенту
ORCID: 0000-0002-4595-9245



ГЛАДКИХ Федір Володимирович

доктор філософії в галузі охорони здоров'я, лікар, старший науковий співробітник Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»

Автор понад 300 наукових праць,
у тому числі 5 монографій та 6 патентів
ORCID: 0000-0001-7924-4048



ЛЯДОВА Тетяна Іванівна

доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, лікар, декан медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України

Автор понад 300 наукових праць,
у тому числі 4 посібників та 4 патентів
ORCID: 0000-0002-5892-2599



ЧИЖ Микола Олексійович

кандидат медичних наук, старший дослідник, лікар, завідувач відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України

Автор понад 200 наукових праць,
у тому числі 4 монографій та 11 патентів
ORCID: 0000-0003-0085-296X

