

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Петрик Наталія Дмитрівна

УДК 616-002.2-092.9-084:602.9:591.476(043.3)

**ДИСЕРТАЦІЯ
ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ
ВИКОРИСТАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН
У ПРОФІЛАКТИЦІ ХРОНІЗАЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ**

222 Медицина
22 Охорона здоров'я
спеціалізація «Патологічна фізіологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Н.Д. Петрик

Науковий керівник: Шевченко Олександр Миколайович,
доктор медичних наук, професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Петрик Н.Д. Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Патологічна фізіологія». – Харківський національний медичний університет МОЗ України. – Харків, 2021; Харківський національний медичний університет МОЗ України. – Харків, 2021.

У дисертації представлено теоретичне узагальнення і вирішення актуального наукового медичного завдання - патогенетичного обґрунтування використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення. На моделі вторинно хронічного запалення показано, що, за даними основного параметра запалення – реакцій системи крові, застосування мезенхімальних стовбурових клітин значно зменшує хронізацію запалення.

Експеримент був проведений на 132 дорослих самцях лабораторних щурів (вагою 200-220 г, віком 4-5 місяців) у віварії Харківського національного медичного університету. Використовували патофізіологічні, гематологічні, гістологічний, гістохімічні, імуноферментні і статистичні методи дослідження. Моделлю запалення було карагієнове хронічне асептичне запалення, викликане внутрішньом'язовим введенням в область стегна 10 мг λ -карагієну (Sigma, США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію. Використовували мінімально допустиму для статистичного опрацювання та отримання достовірних результатів загальноприйнятую кількість тварин (по 6 на групу), а також мінімально достатню для досягнення мети і вирішення завдань дослідження кількість експериментальних груп. Мезенхімальні стовбурові клітини виділяли із кісткового мозку стегнової кістки щурів за стандартною процедурою. Концентрація мезенхімальних стовбурових клітин

становила 2 мільйони клітин у 0,4 мл для кожної тварини, які вводились щурам в ділянку хронічного карагієнового запалення.

Умертвіння тварин здійснювали шляхом інгаляції високих концентрацій діоксиду вуглецю (CO_2) з наступною декапітацією. Як матеріал для досліджень було використано тканини вогнища запалення, кістковий мозок стегна, периферичну кров.

У докладній динаміці запалення, починаючи з 6-ої години до 28-ої доби, були досліджені реакції системи крові та їхні механізми:

1. Клітинно-тканинна динаміка вогнища запалення за допомогою оглядового забарвлення гематоксиліном-еозином, за Ван Гізоном (виявлення колагенізації).
2. Клітинний склад вогнища запалення.
3. Загальна кількість каріоцитів, мієлограма у кістковому мозку стегна.
4. Загальна кількість лейкоцитів у крові, лейкоцитарна формула. Лейкоцитарно-моноцитарне співвідношення.
5. Вміст маркерів запалення ($\text{TNF-}\alpha$, IL-6, СРБ) у крові за допомогою імуноферментних наборів для кількісного визначення цитокінів, користуючись інструкцією виробника.

Клітинно-тканинна динаміка характеризується процесом загоєння вогнища запалення в смугастій м'язовій тканині лабораторної тварини шляхом вторинної альтерації та нагноєння, з подальшою резорбцією гнійного ексудату, процесами його організації, що починається з периферійних ділянок, та утворенням гігантських багатоядерних клітин. Застосування мезенхімальних стовбурових клітин прискорює процеси репарації. Це проявляється в швидшій резорбції гнійно-некротичних мас, більшій кількості фібробластичних та імунних клітин у вогнищі запалення, утворенні багатоядерних гігантських клітин у більш ранні строки.

На тлі використання мезенхімальних стовбурових клітин у порівнянні з природним перебігом запалення, в клітинному складі центру вогнища запалення спостерігається значне зниження кількості нейтрофілів починаючи

з 3-ої доби (в 2,3 рази) до завершення експерименту. Вміст моноцитів суттєво вищий з 21-ої доби (в 4,5 рази) до кінця експерименту, а також підвищується рівень макрофагів на 28-му добу (в 2,5рази) в порівнянні з природним перебігом запалення. В клітинному складі периферії вогнища запалення спостерігається значне зниження кількості нейтрофілів на 21-шу добу (в 1,9 рази), а вміст макрофагів підвищується на 28-му добу (в 1,5рази) в порівнянні з природним перебігом запалення, що свідчить про зменшення хронізації запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

Результати наших досліджень кістково-мозкового кровотворення в динаміці вторинно хронічного запалення показують, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зменшення хронізації процесу. Під час запалення під впливом мезенхімальних стовбурових клітин у порівнянні з природним перебігом процесу, загальна кількість каріоцитів достовірно вища на 6-ту годину (у 2,1 рази, $p < 0,01$) і достовірно нижча на 5-ту і 21-шу доби (відповідно в 2,4 рази, $p < 0,001$, і в 1,41 рази, $p < 0,05$). Спостерігається достовірне збільшення кількості незрілих нейтрофілів на 6-ту годину і 14-ту добу (відповідно в 1,6 рази, $p < 0,05$, та в 2,2 рази, $p < 0,05$). Достовірне зниження кількості незрілих нейтрофілів - на 1-шу та 5-ту доби (відповідно в 2,4 рази, $p < 0,05$ та в 2,2 рази, $p < 0,01$). Вміст моноцитів достовірно більший на 14-ту добу і менший на 5-ту добу (відповідно в 2,3 рази, $p < 0,001$, та в 2,13 рази, $p < 0,001$), лімфоцитів достовірно вищий на 6-ту годину, 2-гу і 14-ту доби (відповідно в 1,93 рази, $p < 0,05$, у 2,33 рази, $p < 0,05$ і в 1,53 рази, $p < 0,05$) і нижчий на 5-ту та 21-шу доби (відповідно у 2,2 рази, $p < 0,001$, у 1,3 рази, $p < 0,05$). Вміст лімфоцитів більший протягом перших 14-ти діб запалення і менший у більш пізні терміни, які відповідають періоду хронізації запалення.

При відтворенні хронічного запалення на тлі використання мезенхімальних стовбурових клітин на відміну від природнього перебігу кількість лейкоцитів нижча протягом майже всього експерименту. Максимальна кількість лімфоцитів при природньому перебігу хронічного

запалення відмічалась на 28-му добу (достовірно вище в 2,6 рази $p < 0,01$), а при запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин спостерігається зсув на 5-ту та 10-ту доби (відповідно, в 1,9 рази $p < 0,05$ та 2,8 рази $p < 0,01$), що сприяє більш ранньому закінченню запальної реакції. Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення є важливим прогностичним маркером дисфункції ендотелію та запалення. В результаті ми виявили позитивну динаміку зі збільшенням терміну дослідження на тлі застосування мезенхімальних стовбурових клітин. З 3-ої доби до 28-ої доби показник лімфоцитарно-моноцитарного співвідношення поступово підвищувався у групі тварин при природньому перебігу запалення на тлі застосування мезенхімальних стовбурових клітин, що свідчить про сприятливий прогноз щодо видужування та ймовірно може розглядатися як ізольований маркер динаміки хронічного запалення. Виходячи з показників лейкоцитарної реакції периферичної крові та лімфоцитарно-моноцитарного співвідношення в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення, застосування мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації процесу, що свідчить про можливість використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронічного запалення.

Відомо, що кілька біомаркерів (цитокіни та неспецифічні білки) пов'язані з хронічним запаленням. Наше дослідження мало на меті дослідити сироваткові рівні фактора TNF- α , IL-6 та СРБ, оскільки є все більше доказів значущості цих маркерів у перебігу та вирішенні широко розповсюджених захворювань, що викликаються або підтримуються хронічним запаленням. Запалення на тлі використання мезенхімальних стовбурових клітин протікає зі зниженням активності TNF- α в периферичній крові, рівень якого був значно нижчим при введенні мезенхімальних стовбурових клітин порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 14-ої по 28-му доби (відповідно в 1,93 рази $p < 0,001$ та в 2,24 рази $p < 0,001$). Мезенхімальні стовбурові клітини здатні сприяти закінченню запалення в більш ранні терміни, про що свідчить рівень концентрації IL-6 в

периферичний крові, які були значно нижчими при запаленні на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 10-ої по 21-шу доби (відповідно в 2,38 рази $p < 0,001$ та в 2,23 рази $p < 0,001$). Концентрація СРБ змінюється хвилеподібно з максимальним зниженням на 5-ту добу, а потім з 21-ої доби до завершення експерименту (відповідно в 2,1 рази $p < 0,001$ та 2 рази $p < 0,001$) на тлі застосування мезенхімальних стовбурових клітин. При звичайному перебігу запалення піки концентрації СРБ спостерігалися на 2-гу, 3-тю, і в подальші терміни експерименту с 7-ої по 28-му доби.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше встановлено значний протизапальний та імуномодулюючий вплив мезенхімальних стовбурових клітин за умов вторинно хронічного карагієнового запалення. Він проявляється з боку різних складових клітинно-тканинної реакції вогнища запалення: лейкоцитарної інфільтрації, проліферації сполучно-тканинних елементів. Спостерігається інфільтрація запальної тканини лейкоцитами в ранні терміни запалення, яка посилює ефективність елімінації флогогену і супроводжується зниженням подальшої інфільтрації та скорочує термін перебігу запалення. Застосування мезенхімальних стовбурових клітин стимулює накопичення тканинних базофілів, макрофагів, фібробластів у початкові терміни запалення, що сприяє більш вираженій репарації у гострий період запалення і зниженню розвитку сполучної тканини у період хронізації процесу.

Встановлено, що під час запалення, на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин, порівняно з природнім перебігом процесу, загальна кількість каріоцитів достовірно знижується на 5-ту і 21-шу добу (відповідно в 2,4 рази, і в 1,41 рази). Збільшення кількості нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів відмічається в більш ранні терміни на тлі застосування мезенхімальних стовбурових клітин (до 14-ої доби). Застосування

мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення за рахунок більшої активації гемопоезу.

Отримало подальший розвиток уявлення, що при відтворенні хронічного запалення на тлі використання мезенхімальних стовбурових клітин на відміну від природнього перебігу рівень лейкоцитів нижчий протягом майже всього дослідження. Таким чином, мезенхімальні стовбурові клітини виявляють свої протизапальні та імуномодулюючі здібності. Кількість лімфоцитів при природньому перебігу хронічного запалення мала достовірний пік на 28-му добу, а той час як при запалення на тлі використання мезенхімальних стовбурових клітин відмічалось два піки на 5-ту та на 10-ту доби. Це свідчить про те, що в порівнянні з природнім перебігом запалення, на тлі використання мезенхімальних стовбурових клітин відмічається закінчення запальної реакції раніше. Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення було вперше використано як прогностичний маркер прогресування хронічного запалення у щурів. Вперше доведено, що лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення збільшується на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин, що свідчить про зменшення активності хронічного запалення.

Встановлено, що концентрація TNF- α в периферичній крові була значно нижчою на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 14-ої по 28-му добу, що є підтвердженням зниженням запальної активності.

Доведено, що концентрація IL-6 в периферичній крові була значно нижчою на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 10-ої по 21-шу добу, що свідчить про закінчення запалення в ранні терміни.

Встановлено, що вміст в крові СРБ при введення мезенхімальних стовбурових клітин змінюється хвилеподібно з максимальним зниженням на

5-ту добу, а потім з 21-ої доби до завершення експерименту. При звичайному перебігу запалення піки концентрації СРБ спостерігалися на 2-гу, 3-тю, і в подальші терміни експерименту с 7-ої по 28-му доби.

Вперше виявлено, що при введенні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з кісткового мозку, спостерігалось значне зниження ІЛ-6, TNF- α та СРБ у плазмі тварин контрольної групи з мезенхімальними стовбуровими клітинами без викликання запалення порівняно з контрольною групою. Це можна пояснити імуномодуючою здатністю мезенхімальних стовбурових клітин. Таке суттєве зниження прозапальних цитокінів може бути свідченням неімуногенних властивостей алогенних мезенхімальних стовбурових клітин. Цей факт може бути важливим у таких випадках, коли забір аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин неможливий.

Практичне значення одержаних результатів. Практична значимість полягає у тому, що були встановлені закономірності змін реакцій системи крові в динаміці вторинно хронічного запалення, що протікає на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин. Доведено, що лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення поряд з рівнями прозапальних цитокінів периферичної крові може достовірно використовуватися для прогнозування перебігу хронічного запалення, а також для низки хвороб, передумовою для яких є хронічний запальний процес. Це, безумовно, буде сприяти профілактики та патогенетичної терапії хронічного запалення. Отримані результати показують доцільність використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення, з метою зменшення його подальшого прогресування гострого запалення, а також хронічного запалення, що має значення для практичної медицини.

Ключові слова: хронічне запалення, вогнище запалення, кістковомозкове кровотворення, периферична кров, лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення, туморнекротичний фактор альфа, інтерлейкін 6, С-реактивний білок, мезенхімальні стовбурові клітини.

SUMMARY

Petryk N. Pathogenetic substantiation of the possibility of using MSCs for the prevention of chronic inflammation. – Qualifying research work. Manuscript.

The dissertation for a Doctor of Philosophy Degree, Specialty “Medicine”, «Patological Physiology». – Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine. – Kharkiv, 2021; Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine. – Kharkiv, 2021.

The dissertation presents a theoretical generalization and solution of an actual scientific medical problem – pathogenetic substantiation of the use of mesenchymal stem cells for the prevention of chronic inflammation. The model of secondary chronic inflammation shows that according to the main parameter of inflammation - the reactions of the blood system, the use of mesenchymal stem cells significantly reduces the chronicity of inflammation.

The experiment was performed on 132 adult male laboratory rats (weighing 200-220 g, aged 4-5 months) in the vivarium of Kharkiv National Medical University. Used pathophysiological, hematological, histological, histochemical, enzyme-linked immunosorbent assay and statistical methods of research. The inflammatory model was carrageenan chronic aseptic inflammation caused by intramuscular injection of 10 mg of λ -carrageenan (Sigma, USA) in 1 ml of isotonic sodium chloride solution. We used the minimum allowable for statistical processing and obtaining reliable results of the generally accepted number of animals (6 per group), as well as the minimum number of experimental groups sufficient to achieve the goal and solve the problems of the study. Mesenchymal stem cells were isolated from the femur of rats by the standard procedure. The concentration of mesenchymal stem cells was 2 million cells in 0.4 ml for each animal administered to rats from the area of carrageenan inflammation.

Animals were sacrificed by inhalation of high concentrations of carbon dioxide (CO₂) followed by decapitation. Inflammatory tissue, femoral bone marrow, and peripheral blood were used as research material.

In the detailed dynamics of inflammation, from 6 o'clock to the 28th day, the reactions of the blood system and their mechanisms were studied:

1. Cell-tissue dynamics of the inflammatory focus using review staining with hematoxylin-eosin, according to Van Gizon (detection of collagenization).
2. the Total number of karyocytes, myelogram in the bone marrow of the femur.
3. the total number of leukocytes in the blood, leukocyte formula. Leukocyte-monocyte ratio.
4. The content of inflammatory markers (TNF- α , IL-6, CRP) in the blood using enzyme-linked immunosorbent assays for the quantification of cytokines, using the manufacturer's instructions.

Against the background of the use of mesenchymal stem cells in comparison with the natural course of inflammation, in the cellular composition of the center of inflammation, there is a significant decrease in the number of neutrophils from the 3rd day (2.3 times) until the end of the experiment. The content of monocytes is significantly higher from the 21st day (4.5 times) to the end of the experiment, and the level of macrophages increases on the 28th day (2.5 times) compared with the natural course of inflammation. In the cellular composition of the periphery of the inflammatory focus, there is a significant decrease in the number of neutrophils on the 21st day (1.9 times), and the content of macrophages increases on the 28th day (1.5 times) compared with the natural course of inflammation, indicating a decrease chronic inflammation on the background of the introduction of mesenchymal stem cells.

The results of our studies of bone marrow hematopoiesis in the dynamics of secondary chronic inflammation show that the use of mesenchymal stem cells reduces the chronization of the process. During inflammation under the influence of mesenchymal stem cells compared to the natural course of the process, the total number of karyocytes is significantly higher at 6 hours (2.1 times, $p < 0,01$) and significantly lower on the 5th and 21st day (respectively 2.4 times, $p < 0.001$, and 1.41 times, $p < 0.05$). There is a significant increase in the number of immature

neutrophils at 6 hours and 14 days (1.6 times, respectively, $p < 0.05$, and 2.2 times, $p < 0.05$). Significant decrease in the number of immature neutrophils - on the 1st and 5th day (respectively 2.4 times, $p < 0.05$ and 2.2 times, $p < 0.01$). The content of monocytes was significantly higher on the 14th day and lower on the 5th day (respectively 2.3 times, $p < 0.001$, and 2.13 times, $p < 0.001$), lymphocytes were significantly higher at 6 hours, 2-th and 14th day (respectively 1.93 times, $p < 0,05$, 2,33 times, $p < 0,05$ and 1,53 times, $p < 0,05$) and lower by 5- the 21st and 21st days (respectively 2.2 times, $p < 0.001$, 1.3 times, $p < 0.05$). The content of lymphocytes is higher during the first 14 days of inflammation and lower at a later date, which corresponds to the period of chronic inflammation.

In the reproduction of chronic inflammation on the background of the use of mesenchymal stem cells, in contrast to the natural course, the number of leukocytes is lower during almost the entire experiment. The maximum number of lymphocytes in the natural course of chronic inflammation was observed on the 28th day (significantly higher by 2.6 times $p < 0.01$), and in inflammation, on the background of the introduction of mesenchymal stem cells there is a shift in the 5th and 10th day (respectively, 1.9 times $p < 0.05$ and 2.8 times $p < 0.01$), which contributes to the earlier end of the inflammatory reaction. The lymphocyte-monocyte ratio is an important prognostic marker of endothelial dysfunction and inflammation. As a result, we found a positive trend with increasing study time on the background of the use of mesenchymal stem cells. From the 3rd day to the 28th day, the lymphocyte-monocyte ratio gradually increased in the group of animals with the natural course of inflammation on the background of mesenchymal stem cells, which indicates a favorable prognosis for recovery and can probably be considered as an isolated marker of chronic inflammation. be used along with IL-6, TNF- α , and CRP. Based on the indicators of leukocyte response of peripheral blood and lymphocyte-monocyte ratio in the dynamics of carrageenan secondary chronic inflammation, the use of mesenchymal stem cells reduces the chronicity of the process, which indicates the possibility of using mesenchymal stem cells for the prevention of chronic inflammation.

Several biomarkers (cytokines and non-specific proteins) are known to be associated with chronic inflammation. Our study aimed to investigate serum levels of TNF- α , IL-6, and CRP, as there is growing evidence of the importance of these markers in the course and resolution of common diseases caused or maintained by chronic inflammation. Inflammation with the use of mesenchymal stem cells occurs with a decrease in TNF- α activity in peripheral blood, the level of which was significantly lower with the introduction of mesenchymal stem cells compared with the natural course of inflammation throughout the experiment, with a significant decrease from the 14th to the 28th day (respectively 1.93 times $p < 0.001$ and 2.24 times $p < 0.001$). Mesenchymal stem cells can contribute to the end of inflammation at an earlier date, as evidenced by the level of IL-6 in the peripheral blood, which were significantly lower in inflammation with the introduction of mesenchymal stem cells compared with the natural course of inflammation throughout the experiment, with a significant reduction from 10 on the 21st day (respectively 2.38 times $p < 0.001$ and 2.23 times $p < 0.001$). The concentration of CRP changes in waves with a maximum decrease on the 5th day, and then from the 21st day until the end of the experiment (respectively 2.1 times $p < 0.001$ and 2 times $p < 0.001$) on the background of the use of mesenchymal stem cells. In the normal course of inflammation, the peaks of CRP concentration were observed on the 2nd, 3rd, and in subsequent periods of the experiment from the 7th to the 28th day.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, a significant anti-inflammatory and immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells under conditions of secondary chronic carrageenan inflammation were established. It is manifested by various components of the cell-tissue reaction of the inflammatory focus: leukocyte infiltration, a proliferation of connective tissue elements. Infiltration of inflammatory tissue by leukocytes in the early stages of inflammation is observed, which increases the efficiency of phlogogen elimination and is accompanied by a decrease in subsequent infiltration and shortens the duration of inflammation. The use of mesenchymal stem cells stimulates the

accumulation of tissue basophils, macrophages, fibroblasts in the initial stages of inflammation, which contributes to more pronounced repair in the acute period of inflammation and reduced connective tissue development during the chronic process.

It was found that during inflammation, on the background of the introduction of mesenchymal stem cells, compared with the natural course of the process, the total number of karyocytes significantly decreases on the 5th and 21st day (2.4 times and 1.41 times, respectively). An increase in the number of neutrophils, lymphocytes, and monocytes is observed at an earlier date on the background of the use of mesenchymal stem cells (up to the 14th day). The use of mesenchymal stem cells reduces the chronicity of inflammation due to greater activation of hematopoiesis.

There was a further development of the idea that in the reproduction of chronic inflammation on the background of the use of mesenchymal stem cells in contrast to the natural course, the level of leukocytes is lower during almost the entire study. Thus, mesenchymal stem cells show their anti-inflammatory and immunomodulatory abilities. The number of lymphocytes in the natural course of chronic inflammation had a significant peak on the 28th day, while in inflammation on the background of the use of mesenchymal stem cells there were two peaks on the 5th and 10th day. This indicates that in comparison with the natural course of inflammation, against the background of the use of mesenchymal stem cells, the end of the inflammatory reaction is observed earlier. The lymphocyte-monocyte ratio was first used as a prognostic marker for the progression of chronic inflammation in rats. It was proved for the first time that the lymphocyte-monocyte ratio increases against the background of the introduction of mesenchymal stem cells, which indicates a decrease in the activity of chronic inflammation.

It was found that the concentration of TNF- α in the peripheral blood was significantly lower with the introduction of mesenchymal stem cells compared with the natural course of inflammation throughout the experiment, with a

significant decrease from the 14th to the 28th day, which confirms the decrease in inflammatory activity.

It was proved that the concentration of IL-6 in the peripheral blood was significantly lower on the background of the introduction of mesenchymal stem cells compared with the natural course of inflammation throughout the experiment, with a significant decrease from the 10th to the 21st day, indicating the end of inflammation early.

It was found that the content of CRP in the blood with the introduction of mesenchymal stem cells changes in waves with a maximum decrease on the 5th day, and then from the 21st day until the end of the experiment. In the normal course of inflammation, the peaks of CRP concentration were observed on the 2nd, 3rd, and in subsequent periods of the experiment from the 7th to the 28th day.

For the first time, it was found that the introduction of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells showed a significant decrease in IL-6, TNF- α , and CRP in the plasma of animals of the control group with mesenchymal stem cells without causing inflammation compared to the control group. This can be explained by the immunomodulatory ability of mesenchymal stem cells. Such a significant decrease in proinflammatory cytokines may be evidence of the non-immunogenic properties of allogeneic mesenchymal stem cells. This fact may be important in cases where the collection of autologous mesenchymal stem cells is not possible.

The practical significance of the obtained results. The practical significance lies in the fact that the patterns of changes in the reactions of the blood system in the dynamics of secondary chronic inflammation, which occurs against the background of the introduction of mesenchymal stem cells. It is proved that the lymphocyte-monocyte ratio along with the levels of proinflammatory peripheral blood cytokines can be reliably used to predict the course of chronic inflammation, as well as for many diseases for which the precondition is a chronic inflammatory process. This will certainly contribute to the prevention and pathogenetic therapy of chronic inflammation. The results show the feasibility of using mesenchymal

stem cells to prevent chronic inflammation, to reduce its further progression of acute inflammation, as well as chronic inflammation, which is important for practical medicine.

Key words: chronic inflammation, focus of inflammation, bone marrow hematopoiesis, peripheral blood, lymphocyte-monocyte ratio, tumor factor-alpha, interleukin 6, C-reactive protein, mesenchymal stem cells.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

1) в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Shevchenko O, Petryk N. Peculiarities of blood formation from bone marrow in secondary chronic inflammation on the background of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019; 9(12):309–318. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2019.09.12.031> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

2. Petryk N, Shevchenko O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation*. 2020; 43,1893–1901. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

3. Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res*. 2020; 13:293–301. <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

4. Petrik N, Shevchenko O. Correlation between lymphocyte-monocyte ratio and cytokines in chronic inflammation in rats treated with allogeneic mesenchymal stem cells. *Inter Collegas*. 2020; 7(3):109–117. <https://doi.org/10.35339/ic.7.3.109-117> (Особистий внесок здобувача – ідея

дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

5. Shevchenko O, Petryk N. Dynamics of changes in the cellular composition of the focus of inflammation in secondary chronic inflammation with the introduction of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020; 9(1):295–309. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.01.033> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Петрик НД, Шевченко ОМ. Протизапальна активність мезенхімальних стовбурових клітин при хронічному запаленні, викликаному λ -каррагінаном у щурів. Патогенетичне обґрунтування. Протизапальні цитокіни. Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О. (Галицькі читання II) «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 2020 жовт. 29–30; Тернопіль. Тернопіль : ТНМУ імені І. Я. Горбачевського; 2020, с. 86–87. (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

7. Shevchenko OM, Petryk ND. The role of Mesenchymal stromal cells in aseptic inflammation: the initial preclinical research. Abstracts of 60. Österreichischen Chirurgenkongress; 2019 Juni 19–21; Innsbruck, Austria. Innsbruck; 2019, s. 98–99. (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

8. Шевченко ОМ, Петрик НД. Роль мезенхімальних стромальних клітин в асептичному запаленні: початкове доклінічне дослідження. Тези доповідей XVI Міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених

та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»: 2019 бер. 28–29; Харків. Харків: ХНУ ім. Каразіна, 2019, с. 286. (*Особистий внесок здобувача* – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

9. Шевченко ОМ, Петрик НД. Роль мезенхімальних стромальних клітин в асептичному запаленні: кістковомозкове кровотворення. Збірник II Міжнародної науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку науки та освіти»; 2020 вер. 15–16; Львів. Львів: Львівський науковий форум; 2020, с. 28. (*Особистий внесок здобувача* – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

10. Шевченко ОМ, Петрик НД. Противовоспалительная активность мезенхимальных стволовых клеток при хроническом воспалении, вызванном λ -каррагиненом у крыс. лейкоцитарно-моноцитарное соотношение. Proceedings of the 6th International Scientific and Practical Conference «Scientific Horizon in the Context of Social Crises»; 2020 September 16–18; Tokyo, Japan. Tokyo, Japan: Otsuki Press; 2020, p. 95. (*Особистий внесок здобувача* – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

11. Petryk N. Mesenchymal stem cells work against chronic inflammation in rats. Abstracts of Webinar on Immunology Research; 2020 October 13; London, UK. *Journal of Autoimmune Disorders*. 2020; S(1):4. (*Особистий внесок здобувача* – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЇ.....	2
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА.....	15
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	28
1.1 Загальні механізми запалення. Роль системи крові в патогенезі запалення.....	28
1.2 Патогенез хронічного запалення. Значення системи крові в механізмах хронізації запалення.....	42
1.3 Роль мезенхімальних стовбурових клітин в патогенезі хронічних запальних захворювань.....	
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	51
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	56
3.1 Реакції системи крові за природнього перебігу вторинно хронічного карагіненового запалення.....	56
3.1.1 Клітинно-тканинна динаміка вогнища запалення.....	56
3.1.2 Клітинний склад центру вогнища запалення за вторинно хронічного запалення.....	65
3.1.3 Клітинний склад периферії вогнища запалення за вторинно хронічного запалення.....	71
3.1.4 Кістковомозкове кровотворення у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.....	75
3.1.5. Лейкоцитарна реакція периферичної крові. Лейкоцитарно-моноцитарне співвідношення у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.....	78
3.1.6 Продукція інтерлейкіну-6 та туморнекротичного фактору-альфа (рівні їх у крові) у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.....	83

3.1.7	Продукція С-реактивного білку (рівень його у крові) у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.....	85
3.2	Реакції системи крові за вторинного хронічного карагієнового запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин...	87
3.2.1	Клітинно-тканинна динаміка вогнища запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.....	87
3.2.2	Клітинний склад центру вогнища запалення за вторинно хронічного запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.....	98
3.2.3	Клітинний склад периферії вогнища запалення за вторинно хронічного запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.....	101
3.2.4	Кістковомозкове кровотворення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.....	104
3.2.5	Лейкоцитарна реакція периферичної крові. Лейкоцитарно-моноцитарне співвідношення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.....	106
3.2.6	Продукція інтерлейкіну-6 та туморнекротичного фактору-альфа (рівні їх у крові) на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.....	113
3.2.7	Продукція С-реактивного білку (рівень його у крові).....	115
	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	119
	ВИСНОВКИ.....	143
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	146
	СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	147
	ДОДАТКИ.....	169

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БК	– бластні клітини
ЗКК	– загальна кількість каріоцитів
ЗКЛ	– загальна кількість лейкоцитів
ЛМС	– лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення
МСК	– мезенхімальні стовбурові клітини
СРБ	– С-реактивний білок
ХЗ	– хронічне запалення
IDO	– індоламін 2,3-діоксигеназа
IFN- γ	– інтерферон- γ
IL-1	– інтерлейкін 1
IL-6	– інтерлейкін 6
IL-4	– інтерлейкін 4
IL-5	– інтерлейкін 5
IL-13	– інтерлейкін 13
IL-10	– інтерлейкін 10
IL-1 α	– інтерлейкін 1 альфа
IL-1 β	– інтерлейкін 1 бета
NK	– натуральні кіллери
NO	– оксид азоту
PGE2	– простагландин E2
TGF- β	– трансформуючий фактор росту бета
TLR	– Toll-подібний рецептор
TNF- α	– туморнекротичний фактор альфа
Th1	– Т-хелпери 1
Th2	– Т-хелпери 2

ВСТУП

Актуальність теми. Запалення – це типовий патологічний процес, який лежить в основі більшості захворювань людини, перша медична проблема, найпоширеніша патологія, яка є центральною та актуальною проблемою медицини. Гострі запальні захворювання зустрічаються все частіше і частіше. Запалення з еволюційно-біологічної точки зору, це захисно-приспосувальна, гомеостатична реакція у формі патології [1-7].

Хронічне запалення (ХЗ) характеризується активною запальною відповіддю і руйнуванням тканин. Значна кількість імунних клітин, включаючи макрофаги, нейтрофіли і еозинофіли, залучені безпосередньо чи шляхом продукування запальних цитокінів при патології ХЗ [13].

З літератури відомо, що існує загальна концепція, згідно з якою ХЗ може бути основною причиною онкологічних захворювань і виражених процесів старіння [14]. Більше того, багато досліджень показують, що ХЗ може мати серйозну роль в різноманітних вікових захворюваннях, включаючи діабет, серцево-судинні та аутоімунні захворювання [15] ожиріння [32], рак [33, 34] [39-43], які призводять до ранньої смертності та інвалідності. Загальновідомо, що багато хронічних запальних процесів супроводжуються підвищеним рівнем прозапальних цитокінів. Існує низка терапевтичних варіантів зниження їх рівня. Серед них моноклональні антитіла та блокатори рецепторів цитокінів, імунодепресанти та нестероїдні протизапальні препарати. Жоден з цих ліків не є абсолютно безпечним та ефективним засобом. Тому все ще існує потреба в розробці нових підходів, які можуть бути спрямовані на інші патогенетичні механізми ХЗ.

Одним з важливих, але мало вивчених факторів, що впливають на процеси регуляції ХЗ, є регуляторна активність мезенхімальних стовбурових клітин (МСК). МСК – унікальні прогеніторні клітини, які можуть бути виявлені в більшості васкуляризованих тканин організму. Відомо, що ці клітини мають потенціал диференціювання. Загальновідомо, що МСК

можуть взаємодіяти з імунними клітинами як вродженої, так і адаптивної імунної системи. Ця взаємодія опосередковується секрецією численних біологічно активних сполук, таких як цитокіни, хемокіни та фактори росту [16]. Для них характерна імуномодулююча і трофічна активність.

Зустрінувшись спочатку з великим скептицизмом, імуномодулююча здатність МСК потім була доведена та добре відтворена в експериментах [17,18]. Це відкрило можливість для використання МСК не тільки з метою заміщення-регенерації тканин, але і для лікування імуноопосередкованих і запальних хвороб [19]. Виявилось, що використання МСК при запальних хворобах дало найбільш показовий ефект [20].

Не дивлячись на те, що є велика кількість праць, присвячених регенеративним якостям МСК [21-29], вкрай мало досліджень, присвячених саме патогенетичному впливу МСК на процеси ХЗ [30, 31].

Імуномодулюючі та протизапальні властивості МСК залишаються частково незрозумілими. МСК експресують помірний рівень білків основного комплексу гістосумісності першого класу, але не експресують білки гістосумісності другого класу [35]. Цей фенотип вважається неімуногенним, що свідчить про те, що така трансплантація алогенному хазяїну не потребуватиме використання імунодепресантів. Більше того, кілька досліджень показують, що МСК мають імунодепресивні властивості, модулюючи функціонування специфічних Т-клітин *in vitro* [36]. Деякі з цих спостережень були зроблені *in vivo*. Була показана експериментальна модель захворювання трансплантат проти господаря [37].

Оскільки МСК існують майже у всіх судинних тканинах, відіграють важливу роль у механізмах регуляції ХЗ [38]. Вважається, що різноманітні медіатори відповідають за імуномодулюючу здатність МСК, такі як трансформуючий фактор росту (TGF- β), індоламін 2,3-діоксигеназа (IDO), індукована синтаза оксиду азоту (iNOS) та простагландин E2 [44]. Ці можливості свідчать про великий терапевтичний потенціал для МСК. Нещодавно кілька досліджень повідомляли, що МСК можуть полегшити

фіброз печінки та сприяти регенерації печінки [45].

Залишається незрозумілим, чи можуть МСК ефективно знижувати рівень прозапальних цитокінів та мати імунорегуляторний ефект при хронічному запаленні. У зв'язку з цим, дослідження впливу МСК в профілактиці хронізації запалення в експерименті є актуальним напрямком сучасної патофізіології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано згідно з планом науково-дослідних робіт Харківського національного медичного університету МОЗ України. Комплексні теми: «Патогенез ушкоджуючої дії на організм негативних екзогенних факторів у сучасних умовах» (номер державної реєстрації 0115U000991, 2015–2017 рр.), «Роль медіаторних механізмів в патогенезі хронізації запалення та обґрунтування принципів його профілактики» (номер державної реєстрації 01180000952, 2018-2020 рр.). Дисертантка є співвиконавицею цих тем.

Тему дисертації затверджено рішенням вченої ради Харківського національного медичного університету 21.09.2017 р. (протокол № 9).

Мета дослідження: патогенетичне обґрунтування можливості використання МСК для профілактики хронізації запалення.

Завдання дослідження:

1. Дослідити реакції системи крові за природнього перебігу вторинно хронічного карагієнового запалення:

1.1. Клітинно-тканинні реакції вогнища запалення.

1.2. Клітинний склад вогнища запалення.

1.3. Кістковомозкове кровотворення.

1.4. Лейкоцитарну реакцію периферичної крові. Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення (ЛМС).

1.5. Продукцію ІЛ-6, TNF- α , С-реактивного білку (СРБ) (рівні їх у крові).

2. Вивчити зазначені реакції системи крові при вторинно хронічному карагієновому запаленні на тлі введення МСК.

Об'єкт дослідження: профілактика ХЗ.

Предмет дослідження: патогенетичне обґрунтування використання МСК для профілактики ХЗ.

Методи дослідження: патофізіологічні, гематологічні, гістологічні, гістохімічні, імуноферментні і статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено значний протизапальний та імуномодулюючий вплив МСК за умов вторинно хронічного карагієнового запалення. Він проявляється з боку різних складових клітинно-тканинної реакції вогнища запалення: лейкоцитарної інфільтрації, проліферації сполучно-тканинних елементів. Спостерігається інфільтрація запальної тканини лейкоцитами в ранні терміни запалення, яка посилює ефективність елімінації флогогену і супроводжується зниженням подальшої інфільтрації та скорочує термін перебігу запалення. Застосування МСК стимулює накопичення тканинних базофілів, макрофагів, фібробластів у початкові терміни запалення, що сприяє більш вираженій репарації у гострий період запалення і зниженню розвитку сполучної тканини у період хронізації процесу.

Встановлено, що під час запалення, на тлі введення МСК, порівняно з природним перебігом процесу, загальна кількість каріоцитів (ЗКК) достовірно знижується на 5-ту і 21-шу доби (відповідно в 2,4 раза, і в 1,41 раза). Збільшення кількості нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів відмічається в більш ранні терміни на тлі застосування МСК (до 14-ої доби). Застосування МСК призводить до зниження хронізації запалення за рахунок більшої активації гемопоезу.

Отримало подальший розвиток уявлення, що при відтворенні ХЗ на тлі використання МСК на відміну від природнього перебігу рівень лейкоцитів нижчий протягом майже всього дослідження. Таким чином, МСК виявляють свої протизапальні та імуномодулюючі властивості. Кількість лімфоцитів при природньому перебігу ХЗ мала достовірний пік на 28-му добу, а той час як при запалення на тлі використання МСК відмічалось два піки на 5-ту та на

10-ту доби. Це свідчить про те, що в порівнянні з природнім перебігом запалення, на тлі використання МСК відмічається закінчення запальної реакції раніше.

Вперше встановлено, що ЛМС може бути вперше прогностичним маркером прогресування ХЗ, а також доведено, що ЛМС збільшується на тлі введення МСК, що свідчить про зменшення активності ХЗ.

Встановлено, що концентрація туморнекротичного фактора альфа (TNF- α) в периферичній крові була значно нижчою на тлі введення МСК порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 14-ої по 28-му добу, що є підтвердженням зниженням запальної активності.

Доведено, що концентрація ІЛ-6 в периферичній крові була значно нижчою на тлі введення МСК порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 10-ої по 21-шу добу, що свідчить про закінчення запалення в ранні терміни.

Встановлено, що вміст в крові СРБ при введення МСК змінюється хвилеподібно з максимальним зниженням на 5-ту добу, а потім з 21-ої доби до завершення експерименту. При звичайному перебігу запалення піки концентрації СРБ спостерігалися на 2-гу, 3-тю, і, в подальші терміни експерименту, з 7-ої по 28-му добу.

Практичне значення одержаних результатів. Практична значимість полягає у тому, що були встановлені закономірності змін реакцій системи крові в динаміці вторинно ХЗ, що протікає на тлі введення МСК. Доведено, що ЛМС поряд з рівнями прозапальних цитокінів у периферичній крові може достовірно використовуватися для прогнозування перебігу ХЗ, а також для низки хвороб, передумовою для яких є хронічний запальний процес. Отримані результати показують доцільність використання МСК для профілактики хронізації запалення, з метою зменшення подальшого прогресування гострого запалення, а також ХЗ, що має значення для практичної медицини.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедри патофізіології Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава; кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедри патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; кафедри фізіології і патологічної фізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету; кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського; кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету МОЗ України; кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету, що підтверджено відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Авторкою самостійно визначено мету та завдання дослідження, проаналізовано та зареферовано наукову літературу за темою дисертації, проведено експериментальні дослідження, опрацьовані отримані результати, проведено їх аналіз та узагальнення, представлені наукові висновки, написано і оформлено всі розділи дисертації. Патоморфологічні дослідження проведено при консультативній допомозі к.мед.н., доц. Плітень О. М. на базі кафедри патологічної анатомії ХНМУ. Імуноферментний аналіз здійснено в науковій лабораторії кафедри біологічної хімії ХНМУ при консультативній допомозі к.біол.н., доц. Горбач Т.В. Отримання і підготовка МСК здійснено відповідно до угоди між ХНМУ і Державною Установою Інститут нейрохірургії імені акад. А.П. Ромоданова НАМН України в лабораторії молекулярної біохімії при консультативній допомозі старшої лаборантки лабораторії молекулярної біохімії, к.мед.н Алексенко Н.П.

Апробація результатів дослідження. Основні наукові положення дисертації доповідались та обговорювались на XVI Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання

сучасної медицини» (Харків, 28–29 березня 2019 р.; публікація тез, постерна доповідь), 60. Österreichischen Chirurgenkongress (Innsbruck, Austria, 19–21 Juni 2019; публікація тез, постерна доповідь), XII Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О. (Галицькі читання II) «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.; публікація тез), II Міжнародній науково-практичній конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку науки та освіти» (Львів, 15–16 вересня 2020 р.; публікація тез), 6th International Scientific and Practical Conference «Scientific Horizon in the Context of Social Crises» (Tokyo, Japan, 16–18 September 2020; публікація тез), Webinar on Immunology Research (London, UK, 13 October 2020; публікація тез, усна доповідь).

Публікації. Матеріали дисертації опубліковано в 11 наукових роботах, зокрема 5 статтях, з яких 1 – у науковому фаховому виданні України, 4 – у закордонних періодичних наукових виданнях (Польща, США, Швейцарія), з них 2 статті в редакціях журналів віднесені до першого-третього квантилів (Q 1 – Q 3) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports, 6 тез доповідей – у матеріалах конгресів і конференцій. У публікаціях відображено всі основні положення дисертаційної роботи.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 180 сторінках комп'ютерного набору, містить 13 таблиць та 49 рисунків (25 мікрофотографій і 25 діаграм). Складається з анотацій, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, розділу результатів власних досліджень, який складається з двох підрозділів, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 196 джерел – 16 кирилицею та 180 латиницею, додатків.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальні механізми запалення. Роль системи крові в патогенезі запалення

Запалення – це виключно важлива імунна відповідь, яка дає можливість виживання під час інфекції або при пошкодженні і підтримує тканинний гомеостаз в безлічі шкідливих умов. Запалення здійснюється ціною транзиторного зниження функції тканини і має значення в патогенезі хвороб порушеного гомеостазу.

Запалення відомо людству протягом декількох тисяч років. Хоча описи запалення можуть бути знайдені в античних медичних текстах, очевидно, першою людиною, яка описала клінічні симптоми запалення, був римський доктор Корнеліус Цельс в першому столітті нашої ери. Ці симптоми вважаються класичними ознаками запалення: *rubor et tumor cum calore et dolore*. Цельс зазначив ці симптоми в своїй праці *De medicina*, описуючи процедури для лікування болю в грудній клітині і, тим самим, став часто цитованою знаменитістю [51].

Фізіологічне значення чотирьох кардинальних ознак запалення було відкрито значно пізніше Августом Воллером і Юліусом Конгеймом, які відкрили міграцію лейкоцитів з кровоносних судин і інші зміни судинних характеристик при гострій запальній відповіді. Аналізуючи живі тканини під мікроскопом, Конгейм спостерігав вазодилатацію, перетікання плазми і міграцію лейкоцитів із судин в навколишні тканини [52].

П'ятий кардинальний сигнал – *functio laesa* – додав Рудольф Вірхов в 1858 році у своїй книзі *Cellularpathologie* [53]. Примітно те, що чотири ознаки запалення, описані Цельсом, притаманні тільки для гострого запалення. *Functio laesa* - єдина ознака, яка універсальна і може бути застосована до всіх типів запалення. Головний внесок Вірхова в дослідження запалення полягає у встановленні нового погляду на патологічні процеси – перехід до розуміння

на клітинному рівні.

Іншою віхою в розумінні патології було відкриття фагоцитозу Іллею Мечниковим в 1892 році. Мечников підкреслював корисні аспекти запалення і вказав на ключову роль макрофагів і нейтрофілів в захисті і підтримці тканинного гомеостазу [54].

У той же час, Пауль Ерліх інтенсивно розробляв гуморальну теорію імунітету, слідуючи відкриттям Еміля Берінга – творця протидифтерійної сироватки в 1890 році. Роль сироваткового компонента була підтримана відкриттям комплементу Жюлем Борді в 1896 році.

Наступні досягнення включають ідентифікацію різних класів запальних медіаторів, шляхів, які контролюють їх продукцію і механізмів їх дії. Ми знаємо, що запалення проявляється у багатьох формах і модальностях, які управляються шляхом різних механізмів індукції, регуляції і реалізації. В останні кілька десятиліть спектр превалюючих запальних станів був зміщений від гострих запальних реакцій у відповідь на рани і інфекції до хронічних запальних станів, які супроводжують, наприклад, цукровий діабет 2 типу, атеросклероз, астму, нейродегенеративні захворювання і рак.

Типовий запальний процес складається з чотирьох компонентів: індуктори запалення, сенсори, які їх виявляють, медіатори, індуковані сенсорами і тканини – мішені, які піддаються дії запальних медіаторів. Залежно від типу інфекції (бактеріальної, вірусної або паразитарної), сенсори, медіатори і тканини-мішені варіюють так, що включається певний тип запальної відповіді. Тип шляху, індукованого в даних умовах, залежить від характеру запального тригера. Таким чином, бактеріальні патогени виявляються рецепторами вродженої імунної системи, такими як Toll-подібні рецептори (TLR), які експресуються на макрофагах, і індуюють продукування запальних цитокінів (наприклад, TNF- α , IL-1, IL-6) і хемокінів (наприклад, CCL2 і CXCL8), а також простагландинів. Потім ці запальні медіатори впливають на тканини-мішені, включаючи місцеві кровоносні

судини, для індукції вазодилатації, екстравазації нейтрофілів і витоку плазми в інфіковану тканину. Нейтрофіли, набрані з кровообігу, резидентні макрофаги, і тучні клітини шукають і руйнують патогени. Цьому процесу допомагають плазмові компоненти, включаючи антитіла і комплемент. Крім того, IL-1, TNF- α і IL-6 можуть мати системні ефекти при секреції в достатніх кількостях. Вони індукують клітини печінки (гепатоцити) для продукування білків гострої фази, таких як С-реактивний білок і фактори коагуляції, і вони активують ендотелій мозку для виробництва простагландинів, включаючи основний прозапальний простагландин простагландин E2 (PGE2). PGE2, що місцево продукується, в свою чергу, індукує специфічні популяції нейронів у центральній нервовій системі для просування так званої поведінки через хворобу: гарячка, анорексія, втома, сонливість і соціальне відторгнення [37]. При вірусній інфекції індукується вироблення інтерферонів першого типу (альфа і бета) ураженими клітинами. Також відбувається активація цитотоксичних лімфоцитів. При паразитарних інфекціях тучними клітинами і базофілами продукується гістамін і інтерлейкіни (IL-4, IL-5, IL-13). Імунна відповідь також може бути викликана алергенами, що призводять до алергічного запалення, що діє, перш за все, на епітелій слизових, гладкі м'язи і судинне русло.

У разі стерильного пошкодження тканин, при відсутності інфекції, гостре запалення забезпечує відновлення тканин і допомагає запобігти колонізації пошкоджених тканин опортуністичними патогенами. Молекулярна ідентичність тригерів і сенсорів, залучених в запальний процес у відповідь на пошкодження тканин є не досить зрозумілою, хоча вважається, що тут залучені молекули, які випускаються клітинами, що гинуть, продуктів розпаду екстрацелюлярного матриксу, і продуктів протеолітичних каскадів, активованих судинним пошкодженням. Пошкодження тканин виявляється як тканинно-резидентними макрофагами, які викликають запальні і репаративні реакції, так і больовими рецепторами (ноцицепторами), які дозволяють відчувати біль в пошкодженій ділянці. Цікаво, що обидва типи сенсорів

пошкодження тканин можуть бути активовані одними з тих же сигналів, які виникають при травмі, наприклад позаклітинної АТФ, що вивільняється з апоптозних клітин, і брадикініном, який генерується протеолітичним каскадом, викликаним ушкодженням судин [55]. Запалення і ноціцепція функціонально пов'язані на декількох рівнях: формування ексудату, розбухання тканин і вивільнення запальних медіаторів, відповідальних за «запальну біль», а ноціцепція доповнює запальні рецептори для моніторингу гомеостазу тканин. Крім того, простагландини можуть знизити поріг больового відчуття, збільшуючи чутливість ноціцепторів. Примітно, що сприйняття запального середовища блукаючим нервом викликає «запальний рефлекс», який бере участь в негативному контролі запалення [56].

Вогнище запалення. Лейкоцити відіграють важливу роль при запаленні. Проникаючи в сполучну тканину з кровотоку, вони здійснюють неспецифічний і специфічний захист через екзоцитоз біологічно активних речовин, руйнуючу активність, фагоцитоз, вироблення антитіл та ін. Фагоцитарні клітини домінують у механізмах бактерицидного захисту організму.

Одним із найменш вивчених у проблемі запалення є питання механізмів лейкоцитарної інфільтрації вогнища, зміни клітинних фаз, переходу від розгортання патологічного процесу до його стихання. Секреція катіонних білків та факторів проникності активованими нейтрофілами має велике значення у формуванні вогнища запалення. Ці біологічно активні речовини мають високу антибактеріальну активність, підвищують проникність клітинних мембран, стимулюють дегрануляцію тучних клітин, базофільних лейкоцитів. Інфільтрація вогнища запалення нейтрофілами спостерігається переважно протягом 48 годин після місцевого пошкодження тканин. Ступінь інфільтрації залежить від запасу гранулоцитів у кістковому мозку, властивостей нейтрофільних лейкоцитів та рН у вогнищі запалення.

Гостра запальна відповідь зазвичай припиняється після усунення тригерного впливу, вогнище інфекції очищується, а пошкоджена тканина

відновлюється. Припинення запальної відповіді і перехід в гомеостатичний стан є активним і сильно регульованим процесом, відомим як реалізація запалення. Було ідентифіковано кілька ключових регуляторних механізмів реалізації, включаючи перехід від прозапальних простагландинів до протизапальних, що викликає вивільнення ліпоксинів. Цей рецептор, в свою чергу, організовує перехід від нейтрофілів до набору моноцитів, що призводить до очищення від мертвих клітин та іншого «сміття» і ініціює відновлення тканин на ураженій ділянці [57]. Якщо запальний тригер не зникає через дію гострою запальною відповіддю або зберігається за будь-якої іншої причини, фаза відновлення не може пройти відповідним чином і може виникнути хронічний запальний стан. Цей стан може бути викликано хронічними інфекціями, пошкодженням тканин, стійкими алергенами, незнищеними сторонніми частинками або ендогенними кристалами, такими як мононатрієвий урат [58]. Хронічна запальна відповідь в цих випадках зазвичай локалізується на ділянці, де присутній запальний індуктор, і часто призводить до різних типів ремоделювання місцевої тканини. Наприклад, персистуюча інфекція може призвести до утворення гранулем і утворення лімфоїдних органів в місці ураження. Так само стійке запалення дихальних шляхів, викликане алергенами, може привести до ремоделювання респіраторних епітеліальних тканин, що призводить до астми.

Крім того, було описано все більшу кількість хронічних запальних станів, коли ініціюючий тригер не було чітко визначено, але, мабуть, він не був інфекцією або пошкодженням тканин. Ці запальні стани представляють особливий інтерес, оскільки вони супроводжують більшість хвороб промислово розвинених країн, включаючи ожиріння і діабет другого типу, атеросклероз, нейродегенеративні захворювання і рак. Цікаво, що в цих випадках ХЗ з'являються порочні цикли, що зв'язують запалення і супроводжуючий патологічний процес.

Отже, ожиріння може привести до запалення, запалення знижує резистентність до інсуліну, це викликає діабет і прогресуюче ожиріння [59].

Подібні цикли позитивного зворотного зв'язку присутні при атеросклерозі, раку та інших хронічних запальних захворюваннях. Дійсно, цей тип відповідних відносин (формування зачарованого кола) може бути відповідальним, принаймні частково, за хронічну природу цих запальних станів і відрізняє їх від першого типу хронічного запалення, викликаного збереженням запального індуктора. Щоб зрозуміти походження цих запальних процесів, нам потрібно більш широко розглянути запалення і його зв'язок з іншими системами гомеостатичного контролю.

Кістковий мозок. Гемопоез – це система, за допомогою якої молоді стовбурові клітини, що мають потенціал для оновлення, проліферації та диференціації, через низку проміжних стадій утворюють велику кількість зрілих клітин. Дозріваючи, стовбурові клітини втрачають здатність до самооновлення та стають спеціалізованими [60].

Кровотворна тканина – це динамічна, що постійно оновлюється система. Кістковий мозок має здатність утворювати величезну кількість клітин потрібного типу, у потрібній кількості та в потрібному місці: вона виконує важке завдання забезпечення рівноважного кровотворення. Під час запалення продукція лейкоцитів збільшується в рази. Порушення регуляції при таких реакціях може призвести до появи лейкемії, а отже, еволюційно ця система є надзвичайно надійною. Він постійно реалізує принцип надмірності, який забезпечує збереження функції навіть у випадку втрати окремих регулюючих ланок.

Найважливіші частини системи кровотворення розташовані саме серед 5% неідентифікованих клітин, де проходять вирішальні стадії диференціації клітин.

На додаток до гемопоетичних стовбурових клітин, тепер стало ясно, що кістковий мозок дорослої людини містить рідкісну популяцію МСК (0,01% до 0,001%). Морфологічно МСК у своєму недиференційованому стані мають форму веретена і нагадують фібробласти. Вони можуть широко розширювати їх *in vitro*, а при культивуванні в певних умовах зберігають здатність

диференціюватись на різні лінії, включаючи кістки, хрящі, сухожилля, м'язи, нервові та стромальні клітини [61].

Існують фактори, що діють прямо та опосередковано. Деякі фактори мають лише стимулюючий або гальмівний ефект, але більшість цитокінів виконують більш складні функції у проліферації гемопоетичних клітин. Наприклад, IL-4 може надавати як стимулюючий, так і інгібуючий вплив на проліферацію родоначальників. Багато факторів активні не тільки в системі кровотворення; наприклад, IL-6 бере участь в імунній системі, він пов'язаний з діяльністю печінки, нирок тощо. Один і той же фактор росту може мати різні функції на різних стадіях диференціації. Активація та посилення функцій зрілих клітин залежать від багатьох цитокінів. Клітина може розпочати диференціацію лише при взаємодії з факторами росту. Рівень фактора дозволяє визначити кількість певних клітин крові, що легко переконатися на прикладі еритропоетину. Кількість мітозів, виконуваних гемопоетичною клітиною, також визначається факторами росту. Слід зазначити, що їх дія завжди неоднозначна: одні й ті ж фактори можуть взаємодіяти з абсолютно різними клітинами, а в деяких випадках через інший (чужорідний) рецептор, що може дати прямо протилежні результати. Відсутність одного або декількох факторів у дефіцитних мишей з вибитим геном цього фактора часто взагалі не призводить до змін у гемопоезі; наприклад, відсутність такого важливого фактора, як IL-3, не впливає на кровотворення у відповідних тварин. У деяких випадках надлишок факторів призводить до активації білка p53, який регулює апоптоз і індукує загибель клітин. Всі ці факти вказують на те, що в організмі існує дуже велика надмірність і взаємозамінність молекул, що регулюють кровотворення.

Незважаючи на різноманітність запальних явищ, принципово, запалення є адаптивною відповіддю на шкідливі умови. Як сприятливі, так і згубні аспекти запалення можна пояснити з цієї точки зору. Щоб краще зрозуміти запалення і запальні захворювання, нам потрібно подумати про те, як запалення пов'язане з іншими адаптивними процесами, які діють на різних

рівнях в організмі.

Поняття гомеостазу було вперше запропоновано в 1865 році Клодом Бернардом, який описував постійність внутрішнього середовища як «умова вільного і незалежного життя». Ідея гомеостазу була розвинена Мечниковим. Він розглядав цей процес як контрольований і підтримуваний фагоцитами [62] і запропонував концепцію «фізіологічного запалення» для опису ролі фагоцитів в активній підтримці «гармонії» (тобто гомеостазу). Ці концепції важливі, тому що запалення – це, по суті, адаптивна відповідь, яка спрямована на відновлення гомеостазу. Але якщо це так, то чому запалення пов'язане з тими хворобами, які викликані втратою гомеостазу? Зазвичай відповідь на це питання полягає в тому, що запалення корисно в відповідних кількостях, але може легко стати шкідливим, коли воно надмірне через його руйнуючий тканинний потенціал. Це, безумовно, вірно, але принаймні дві інші причини можуть пояснити патологічний потенціал запальних процесів. Перша причина - наслідок загальної характеристики будь-якого адаптивного відповіді на шкідливі умови: вона завжди відбувається за рахунок нормальної функції. Наприклад, клітини починають працювати з різними типами шкідливих умов, викликаючи відповідні реакції стресу, які забезпечують адаптацію і виживання в умовах аномального клітинного середовища. Ряд спеціалізованих рецепторів еволюціонували для виявлення різних стресорів і вироблення відповідних адаптивних відповідей. Таким чином, тепловий удар, гіпоксія, високий рівень деяких видів кисню, зниження рівня глюкози і амінокислот визначаються такими факторами: індукований гіпоксією фактор 1 альфа (HIF-1 α), фактор теплового шоку 1, еритроїдний фактор 2, 5' аденозинова монофосфат-активована протеїнкіназа і активуючий транскрипцію фактор 4, відповідно, що призводить до змін у клітинній фізіології, які дозволяють адаптуватися до аномальних умов. Ці адаптації відбуваються за рахунок нормальних клітинних функцій і, якщо вони зберігаються довгий час, можуть мати згубні наслідки. На рівні організму несприятливі умови навколишнього середовища, такі як холодна

температура, позбавлення поживних речовин (обмеження калорійності) або зневоднення, впливають на перемикання між антагоністичними фізіологічними процесами, які сприяють або репродуктивної придатності, або соматичному статусу. Цей перемикач управляється за допомогою шляху інсуліноподібного фактору росту 1 - FOXO з активацією транскрипційного фактора FOXO, що призводить до підвищеної стійкості до навантажень. У деяких тварин цей перехід доведений до крайності шляхом запуску входу в стан призупиненої життєдіяльності, такого як сплячий режим у певних ссавців. Однак цей перехід відбувається за рахунок нормальних функцій, головним чином розмноження. Аналогічно, запальна реакція (надмірна чи ні) незмінно відбувається ціною тимчасової нормальної функції тканини і, отже, повсюдно супроводжується *functio laesa*.

Друга причина згубного потенціалу запалення - це особливий спосіб адаптації до певних типів стійких або екстремальних станів. Зокрема, можна уявити два типи стратегій адаптації: один сприяє відновленню гомеостазу, повертаючи регульовані змінні в гомеостатичні установки. Друга стратегія полягає в тому, щоб переключити гомеостатичні задані значення на інші значення, які краще підходять для усунення екстремальних або постійних ненормальних умов. Запальна відповідь може брати участь в обох способах адаптації, хоча другий режим недооцінюється. Проте, зміни в гомеостатичних контрольних пунктах можуть бути особливо важливі при хронічних запальних захворюваннях, таких як ожиріння і діабет типу 2. Справді, запалення може викликати перемикання в метаболічних гомеостатичних підвалинах, наприклад, через його вплив на чутливість до інсуліну, яка може бути призначена для перерозподілу поживних речовин в умовах стресу або інфекції. Цей передбачуваний і корисний механізм може, однак, стати шкідливим не тому, що запалення є надмірним, а тому, що зміни в гомеостатичних контрольних точках можуть стати неадаптивним і увічнені «неприродним» середовищем промислово розвинених країн. Іншими словами, передбачувана, корисна роль цього способу адаптації може стати

шкідливою через невідповідність між поточним середовищем і еволюційним тиском [63].

Аналогія між запаленням і стресовими реакціями є ілюстративною для додаткової причини: місцеве запалення можна розглядати як відповідь на тканинний стрес, тоді як системне запалення, очевидно, є спеціалізованим типом стресової реакції, яка виникає на рівні всього організму. Насправді, в деяких випадках не зрозуміло, де провести лінію між класичною реакцією клітинного стресу і запаленням. Основна відмінність може полягати в тому, що реакції клітинного стресу в значній мірі пов'язані з автономною адаптацією клітин, тоді як запалення зазвичай діє на рівні тканини або організму. Однак походження запальної відповіді може стати ясніше, якщо врахувати, що навіть класичні реакції стресу мають не елементно-автономні компоненти. Наприклад, гіпоксія відчувається за допомогою індукованого гіпоксією фактора 1 альфа і індукує клітинну адаптацію до дефіциту кисню, але також призводить до утворення ендотеліального фактора росту судин, який індукує адаптацію тканини шляхом ангіогенезу. Вірусні інфекції індукують клітинно-автономні противірусні реакції, але також призводять до утворення інтерферону- β (IFN- β), що викликає адаптацію тканинного рівня до вірусу шляхом індукування антивірусного стану в оточуючих клітинах. Дійсно, більшість клітинних стресових реакцій, на додаток до клітинно-автономних адаптивних змін, викликають секретуючі фактори, які впливають на інші клітини в тканині, включаючи резидентні макрофаги. Фактично, живі макрофаги, можуть бути спеціалізованими дозорними клітинами, які визначають не тільки пошкодження і інфекцію, але також і інші типи шкідливих станів, таких як гіпоксія і метаболічний стрес. Дійсно, макрофаги мають багато трофічних функцій, які необхідні для підтримки тканин і гомеостазу [64] і, імовірно, для адаптації до стресу. Залежно від характеру і ступеня проблеми, живі макрофаги-тканини можуть залучати додаткові клітини (наприклад, різні типи моноцитів) в уражену тканину, навіть якщо проблема не пов'язана з інфекцією або травмою. Таким чином, макрофаги

проникають в жирову тканину тварин з ожирінням, викликаючи явище з добре оціненими патологічними наслідками (резистентність до інсуліну), але з невідомої фізіологічної метою [65]. Реакція тканинного стресу, організована макрофагами і тучними клітинами, є проміжною між автономної реакцією стресу і доброякісною запальною реакцією і може бути названа «парою запалення» [66].

Периферична кров. Запальну відповідь можна контролювати на декількох рівнях [67], але принципи регулювання все ще не повністю зрозумілі, частково через складність запальної відповіді і безлічі залучених компонентів. Один із способів деконволюції цієї складності полягає в тому, щоб розрізнити різні контрольні точки в запальній відповіді і розглядати різні способи дії регуляторних сигналів. В принципі, запальну відповідь можна контролювати на чотирьох рівнях, відповідних чотирьом компонентам запального шляху: індукторам, рецепторами, медіаторам і тканинам-мішеням. Одна ключова контрольна точка, яка регулюється основними протизапальними сигналами (наприклад, IL-10, TGF- β , глюкокортикоїди), є продукування медіаторів запалення. Однак протизапальні сигнали можуть також впливати на саму тканину-мішень. По-перше, чутливість тканини-мішені до медіаторів запалення може регулюватися на рівні рецепторів і сигнальних шляхів, які активуються посередниками. Цей режим регулювання дає додатковий рівень специфічності, контролюючи, які тканини реагують, а також ступінь і тривалість відповіді, даному посереднику. Примітно, що більшість медіаторів запалення, наприклад PGE₂, можуть сигналізувати через кілька підтипів рецепторів, які можуть надавати протилежний вплив на тканини-мішені. Перемикання експресії різних типів рецепторів може сприяти цьому способу регулювання. По-друге, протизапальні сигнали можуть діяти шляхом зміни ефектів медіаторів на тканину-мішень. Наприклад, норадреналін може скасувати ефекти гістаміну і брадикініну на гладку мускулатуру бронхіол, викликаючи бронходилатацію. Вазоконстрикція і вазодилатація також можуть контролюватися про- та

протизапальними сигналами, не впливаючи на виробництво запальних медіаторів. Перевага цього типу механізму управління полягає в тому, що він може вибірково регулювати чутливість різних тканин-мішеней, не впливаючи на загальну силу або тривалість запальної відповіді.

Регуляторні механізми часто специфічні для конкретного компонента запальної відповіді. Таким чином, замість повного припинення відповіді більшість протизапальних сигналів вибірково інгібують певні аспекти відповіді. Приклади включають ефекти IL-10 і глюкокортикоїдів на індуковані TLR запальні реакції в макрофагах. Ці протизапальні сигнали інгібують експресію тільки від 10 до 15% TLR-індукованих генів-мішеней. Те ж саме справедливо для багатьох інших протизапальних сигналів. Причиною цієї селективності регулювання є те, що відповідь запальних рецепторів, таких як TLR, зазвичай має кілька функціональних компонентів. Ці компоненти можуть потребувати регулювання незалежно один від одного, що, мабуть, пояснює, чому основні протизапальні сигнали діють специфічно для компонентів. Механічно цей тип контролю зазвичай виконується на рівні транскрипції гена. З'ясування фізіологічного обґрунтування, що лежить в основі цієї специфіки регулювання, є важливим завданням для майбутніх досліджень.

Іншим важливим аспектом контролю запальної відповіді є спосіб отримання протизапальних сигналів. Наприклад, IL-10 продукується в результаті запальної відповіді і є компонентом, що залежить від активності ланцюга зворотного зв'язку. IL-10 зазвичай пригнічує реакцію, яка ініціює власне виробництво і діє на клітини, які продукують запальні медіатори, такі як макрофаги або Т-клітини. Хоча глюкокортикоїди можуть індукуватися запаленням [68], вони також можуть бути отримані у відповідь на сигнали, не пов'язані з запальною відповіддю (психологічний стрес, циркадний годинник) і можуть діяти практично на будь-яку клітину, включаючи клітини, які є мішенями запальної відповіді. Таким чином, IL-10 і глюкокортикоїди (і кілька ядерних рецепторів) діють таким чином, який є

внутрішнім або зовнішнім по відношенню до запального шляху, відповідно. Не дивно, що IL-10 і глюкокортикоїди мають несуттєві ролі в боротьбі із запаленням, і було б корисно порівняти їх різні регуляторні функції при різних запальних станах.

TNF- α – це запальний білок, який секретується моноцитами / макрофагами, Т-клітинами, клітинами гладких м'язів, адипоцитами та фібробластами і відповідає за сигналізацію подій, що ведуть або до апоптозу, або до некрозу. Він також відіграє важливу роль у розвитку стійкості до раку та інфекцій. TNF- α забезпечує широкий спектр клітинних реакцій, включаючи регуляцію запалення, імунну відповідь, виживання клітин, проліферацію та апоптоз. У 1975 р. в експериментах було показано, що після стимуляції ретикулоендотеліальної системи у тварин у циркуляцію виділяється білок, який називається фактором некрозу пухлини. Цей білок може спричинити некротичний регрес деяких пухлин [69, 70].

Всі відомі ефекти TNF- α опосередковані двома типами рецепторів. Вони позначаються як TNFR1 та TNFR2. Зв'язування з різними рецепторами може спричинити подібні або різні реакції. TNFR1 та TNFR2 мають позаклітинний та внутрішньоклітинний зв'язуючий ліганд [71].

Позаклітинні домени є членами сімейства генів нервового фактора росту/рецептора TNF родини. Внутрішньоклітинні домени не мають подібних послідовностей і тому активують різні шляхи передачі сигналу. Це може пояснити, як активація TNFR1 або TNFR2 викликає подібні або різні ефекти. Вважається, що ключова роль у передачі сигналу TNF- α належить фактору транскрипції NF- κ B. Стимули, що індуюють вироблення TNF- α , включають бактеріальні токсини, інфекції, травми, комплекси антиген-антитіло та різноманітні фактори навколишнього середовища. Згідно з численними науковими дослідженнями, рівень TNF- α у сироватці крові підвищений як при гострому, так і при хронічному запаленні [72].

IL-6 – це поліпептид з різними регуляторними функціями щодо запалення, імунної системи та кровотворення. До 1989 р. Проводились різні

дослідження, в яких описувалося декілька молекул з різними функціями, наприклад здатність стимулювати В-клітини диференціюватися в клітини, що продукують антитіла, або стимулювати вироблення білка гострої фази в печінці. Після встановлення ідентичності цих молекул було запропоновано нову назву ІЛ-6.

ІЛ-6 продукується у відповідь на пошкодження тканин або інфекції головним чином моноцитами та лімфоцитами, але може також вироблятися іншими клітинами.

У разі інфекційного процесу стимуляція продукції ІЛ-6 відбувається шляхом зв'язування з рецепторами розпізнавання патогенів макрофагів та моноцитів. Це призводить до активації багатьох шляхів, включаючи NF- κ B, і, отже, до збільшення транскрипції мРНК, що призводить до вивільнення запальних цитокінів, що наочно спостерігалось в нашому експерименті

У разі пошкодження тканин молекулярні структури, пов'язані з пошкодженням, вивільняються і стимулюють вироблення ІЛ-6 [73].

Після утворення в початковому вогнищі запалення, ІЛ-6 вивільняється у кров та досягає печінки [74].

Це спричиняє швидку індукцію СРБ, амілоїду А у сироватці крові, фібриногену, гаптоглобіну та α 1-антихімотрипсину. Одночасно ІЛ-6 зменшує вироблення трансферину, фібронектину та альбуміну. Також ІЛ-6 викликає зменшення заліза та цинку в крові, стимулює мегакаріюцити в кістковому мозку. За допомогою цього цитокіну диференціюються імунокомпетентні клітини. Отже, він найбільш показовий маркер ХЗ.

СРБ є одним із білків гострої фази. Вперше його було виділено в 1930 р. при дослідженні сироватки крові пацієнтів, хворих на пневмококову інфекцію.

СРБ синтезується головним чином у гепатоцитах у відповідь на підвищений рівень прозапальних цитокінів, головним чином ІЛ-6 та меншою мірою ІЛ-1 та TNF α . СРБ може продукуватися гладком'язовими клітинами, ендотеліальними клітинами, макрофагами, лімфоцитами та адипоцитами.

Він синтезується у формі гомопентамеру і у вогнищах запалення, незворотно дисоціює на мономери.

Рівень СРБ підвищується при ревматичних захворюваннях, бактеріальних інфекціях, серцево-судинних захворюваннях та інших запальних процесах.

СРБ в основному розглядається як маркер запалення. Однак він відіграє важливу роль у регуляції імунної відповіді. Основна роль СРП у запаленні полягає в активації компонента С1q системи комплементу з подальшою опсонізацією патогенів. Тому СРБ демонструє захисну дію проти запалення [75].

1.2. Патогенез хронічного запалення. Значення системи крові в механізмах хронізації запалення

Запалення включає широкий спектр процесів, які впливають на всі аспекти нормальної фізіології і патології. Поле стало занадто великим і аморфним, щоб вписатися в єдину дисципліну, не кажучи вже про короткий огляд. Хоча окремі напрямлення досліджень запалення протікали в різних темпах і в усе більш різних напрямках, як і раніше, існують деякі загальні принципи, які ще належить з'ясувати. Наприклад, немає задовільної теорії, що пояснює хронічні запальні стани, пов'язані із захворюваннями гомеостазу. Індуктори запалення, відповідальні за безліч хронічних запальних станів, чітко не визначені, хоча досягнуті деякі успіхи, пов'язані з вивченням реакції стресу [76]. Проте, зв'язки між стресом і запаленням клітин вимагають подальшого вивчення. Зокрема, мало що відомо про неелементно-автономні аспекти реакцій клітинного стресу. Аналіз клітинної комунікації під час стрес-реакції, ймовірно, виявить нові принципи тканинного гомеостазу та адаптації до шкідливих умов. Хоча багато молекул залучені як запальні індуктори під час травми тканини, їх відносний внесок не достатньо визначено, а також не зрозуміло, які з них, якщо вони є, є суттєвими для індукції запальної відповіді.

Відносини між запальними та адаптивними імунними відповідями також не в повному обсязі зрозумілі. Хоча запалення, ймовірно, буде потрібно для індукції адаптивних імунних реакцій, цього явно недостатньо. Важливо відзначити, що запальні реакції на інфекцію і стерильне пошкодження тканин мають різні цілі: перша спрямована на захист господаря від інфекції і може бути пов'язана з індукцією адаптивного імунітету, тоді як остання в основному служить для сприяння відновленню тканин. Детальний аналіз запальних медіаторів, індукованих в двох умовах, повинен допомогти виявити різні особливості запалення, викликані інфекцією і травмою.

Надмірна запальна реакція шкідлива через її негативний вплив на функцію тканини і, коли вона є екстремальною, вона призводить до явного пошкодження тканини. Однак, крім гострої фази запальної відповіді, інші стадії запального процесу також можуть бути дисрегульованими. Відрегульована відповідь на відновлення тканини з супутнім ремоделюванням тканин, фіброзом і стійкою тканинної метаплазією може призвести до зниження або повної втрати нормальної функції тканини, як це відбувається, наприклад, при астмі. Можна собі уявити, що порушення регуляції запалення може також сприяти патології тканин та хронізації запалення.

Запальні пошкодження тканин і імунопатологія несуть високі витрати для здоров'я, а той факт, що вони підтримувалися під час еволюції, може відображати компроміс з корисними, що часто рятують життя, функціями запальної реакції. Однак залишається питання про те, чи існують спеціалізовані механізми для мінімізації ушкодження запаленої тканини. Якщо це так, ці механізми можуть діяти без впливу на захисні аспекти запалення, наприклад, шляхом контролю чутливості тканин до запальних медіаторів або шляхом підвищення опірності тканин запальному пошкодженню за допомогою індукції цитопротекторних механізмів [77].

Одним з найбільш складних аспектів вивчення запалення є

різноманітність і складність запальних медіаторів і їх вплив на тканини-мішені. Хоча механістичні аспекти їх ефектів відносно добре зрозумілі, їх координатні функції в контексті інтактних тканин і їх багатогранних режимів регулювання погано визначені.

Дослідження запалення пройшли довгий шлях від першого опису його кардинальних ознак по Цельсу майже два тисячоліття тому. Хоча багато часу було витрачено на вивчення запалення в патологічному контексті, все частіше запалення займає центральне місце в багатьох областях біології і медицини.

1.3. Роль мезенхімальних стовбурових клітин в патогенезі хронічних запальних захворювань

Одне з важливих місць в розумінні механізмів регуляції ХЗ займають МСК, що присутні практично у всіх васкуляризованих тканинах.

МСК – негемопоетичні стромальні клітини, здатні диференціюватися в мезенхімальні тканини (кістки, хрящі, м'язи, зв'язки і жир) і робити внесок в їх регенерацію [78]. МСК присутні в кістковому мозку в кількості 1 до 10000 клітин, що містять ядра. Незважаючи на те, що ці клітини не безсмертні, вони здатні до багаторазового поділу в культурі, зберігаючи при цьому потенціал до диференціювання в різні лінії. МСК ідентифікують шляхом експресії безлічі молекул, включаючи CD 105, CD 73 і негативності по гемопоетичним маркерам CD 34, CD 45 і CD 14. Властивості МСК роблять їх потенційно ідеальними кандидатами для тканинної інженерії. Було показано, що при системному застосуванні, МСК здатні потрапляти в місця пошкодження у тварин, припускаючи наявність у МСК здібностей до міграції. Механізми, відповідальні за міграцію стовбурових клітин, достовірно не відомі. Передбачається, що важливу роль тут відіграють рецептори до хемокінів і молекули адгезії стовбурових клітин. Кілька досліджень повідомляють про функціональну експресію різних рецепторів хемокінів і молекул адгезії на людських стовбурових клітинах.

У літературі добре документовано, що МСК (ймовірно всі МСК) походять з периваскулярних клітин, які називаються перицитами [79, 80]. Це пояснює, як МСК можуть бути ізольовані практично з усіх васкуляризованих тканин в організмі [81, 82]. Коли кровоносні судини пошкоджені або запалені, перицити відокремлюються від базальної мембрани судини і стають МСК. Ці новосформовані МСК відповідають на особливості локального оточення шляхом секреції цитокінів.

Присутність негемопоетичних стовбурових клітин в кістковому мозку було вперше припущено Конгеймом близько 130 років тому. Він припустив, що кістковий мозок міг бути джерелом фібробластів, причетних до загоєння ран в численних периферичних тканинах [83]. Докази того, що кістковий мозок містить клітини, здатні диференціюватися в інші мезенхімальні клітини, зараз є загальнодоступними, починаючи з робіт Фріденштейн і колег [84]. Вони показали, що кістковий мозок гризунів мав фібробластоподібні клітини з клоногенним потенціалом *in vitro*. У раних 70-х, Фріденштейн поміщав кістковий мозок в пластикові чашки Петрі і, після декількох годин інкубації, змивав клітини, що не приклеїлися. Клітини, адгезованні до пластику, мали веретеноподібну форму і були різноманітними за зовнішнім виглядом, але здатними до формування колоній. Ці клітини також могли рости кістку і відновлювати гемопоетичне мікрооточення в підшкірних трансплантах. Більш того, було продемонстровано властивість цих клітин регенерувати гетеротопічну кісткову тканину в серії трансплантацій, таким чином забезпечуючи докази на підтримку їх самовідновлюючого потенціалу. Роки по тому, безліч лабораторій потверділи і розширили ці відкриття. Було показано, що клітини, ізольовані згідно з протоколом Фріденштейн, були присутні і в кістковому мозку людини. Також було показано, що ці клітини могли бути диференційовані *in vitro* в безліч клітин мезенхімальних ліній, таких як остеобласти, хондроцити, адіпоцити і міобласти [85-87]. Одне з найбільш дивовижних властивостей МСК – їх екстраординарні і залишаються частково незрозумілими імуномодулюючі

властивості. Дорослі людські МСК експресують помірний рівень протеїнів головного комплексу гістосумісності першого класу, але не експресують протеїни головного комплексу гістосумісності другого класу [88]. Даний фенотип вважається неімуногенним, що передбачає, що такий трансплантат алогенному господареві не буде вимагати застосування імуносупресантів. Ще більш дивно, численні дослідження показують, що МСК мають імуносупресивні властивості шляхом модуляції функціонування специфічних Т-клітин *in vitro* [89]. Деякі з цих спостережень були проведені *in vivo*. Такі, як, наприклад, експериментальна модель хвороби трансплантат проти господаря [90].

Численні звіти показали, що дорослі МСК можуть модулювати імунну відповідь Т-і В-клітин [91], а також пригнічують проліферацію Т-клітин, секрецію ними цитокінів, регуляцію цитотоксичності і регулюють баланс Т-хелперів 1 до Т-хелперів 2 (Th1 /Th2) [92]. МСК регулюють функції регуляторних Т-клітин [93]. МСК збільшують життєздатність В-клітин, але також можуть пригнічувати їх проліферацію і припиняти клітинний цикл. Крім того, МСК впливають на секрецію антитіл і продукування ко-стимулюючих молекул В клітин [94]. МСК інгібують дозрівання, активацію і антиген подання дендритних клітин, [95, 96] і МСК також інгібують індукування інтерлейкіном-2 клітин натуральних кіллерів (НК-клітин). Подібно дорослим МСК, ембріональні стовбурові клітини або індуковані плюрипотентні стовбурові клітини також демонструють сильний потенціал для імуномодуляції шляхом інгібування проліферації лімфоцитів і НК-клітин. Крім того, ембріональні МСК пригнічують поширення відповіді Т-лімфоцитів, включаючи CD4 + або CD8 + Т-клітини. Вони також пригнічують цитотоксичні ефекти активованих НК-клітин і пригнічують НК-активуочі рецептори. Недавні дослідження показали, що індуковані плюрипотентні МСК можуть пригнічувати фітогемаглютинин стимульовану проліферацію лімфоцитів в дозалежній формі. Цікаво, що наявні дані свідчать про те, що МСК надають змінні імуномодулюючі ефекти на одні і ті

ж типи імунних клітин в залежності від місцевого мікросередовища або хвороби. Наприклад, МСК зменшують відповідь Th1 у пацієнтів з гострим захворюванням трансплантата проти хазяїна [97] і при аутоімунних захворюваннях, таких як аутоімунний енцефаломієліт [98]. Також було доведено зміна експресії імуномодулюючого гена в МСК, що призводить до посиленої імуносупресивної відповіді [99-101]. Ці спостереження показують, що МСК здатні до перемикання їх ефектів для захисту організму від хвороб в різних ситуаціях.

Хоча основні механізми імуномодуляції МСК ще належить з'ясувати вони, ймовірно, опосередковуються розчинними факторами і клітинно-залежними механізмами. Показано, що МСК регулюють адаптивну і вроджену імунну систему шляхом пригнічення Т-клітин і дозрівання дендритних клітин, зниження активації і проліферації В-клітин і пригнічення проліферації і цитотоксичності НК-клітин, а також генерування регуляторних Т-клітин через розчинні фактори або клітинні контактні механізми [102].

Було припущено, що МСК можуть опосередковувати імуносупресивні ефекти, за допомогою декількох розчинних факторів, включаючи TGF- β 1, PGE2, фактор росту гепатоцитів, IDO, оксид азоту (NO) і IL-10. Велика кількість даних показують, що прозапальний цитокин інтерферон- γ (IFN- γ) один, або в поєднанні з TNF- α , IL-1 α або IL-1 β , індукує МСК для секреції різних ферментів і розчинних факторів, таких, як циклооксигеназа 2, PGE2 і IDO, які опосередковують імунодепресивну активність [103-106]. Показано, що PGE2, який різко підвищується після спільної культивування МСК з мононуклеарними клітинами периферичної крові, інгібує проліферацію Т-клітин [107]. IDO каталізує перетворення триптофану в кінуренін, який здатний пригнічувати ріст і функції імунних клітин. Секреція IDO, як показано, пригнічує алогенні реакції Т-клітин [108]. Завдяки IDO-експресії, дендритні клітини також, як було показано, опосередковують інгібуючий ефект МСК на проліферацію Т-клітин [109]. NO є ще одним розчинним

фактором, який інгібує проліферацію Т-клітин [110]. МСК -продукуємий NO є одним з основних медіаторів придушення Т-клітин [111,112]. Ren et al. [113] встановили, що кістковомозкові МСК різко посилюють індукційну синтазу оксиду азоту у відповідь на комбінацію IFN- γ і прозапальних цитокінів. Вони далі виявили, що МСК послаблюють гіперчутливість уповільненого типу через механізми, які вимагали TNF- α і синтазу оксиду азоту. Nemeth et al. [114] показали що МСК значно придушили алергічні реакції в мишачій моделі астми, викликаній амброзією, за допомогою TGF- β . Крім вищезгаданих факторів, кілька звітів що інші розчинні фактори, такі як IL-6, галектини [115,116] і інгібітор лейкемії [117] можуть регулювати імуномодуляцію МСК. Відомо більше десятка розчинних факторів, що беруть участь в імуномодуляції МСК. Їх взаємозв'язок залишається неясним. Вплив розчинних факторів на активність МСК може варіювати в залежності від походження МСК, цільових клітин і мікрооточення. Хоча безперечно, що МСК-терапія сприяє імуносупресії, необхідно подальше з'ясування докладних біологічних механізмів. У той же час слід зазначити, що деякі цитокіни або хемокіни, що вивільняються з МСК, можуть бути шкідливими, такі як TNF- α і IL-6, які сприяють запаленню.

Кілька звітів про системи культури клітин показали, що контакт з клітинами є ключовим фактором, що бере участь в імуномодельючому ефекті МСК. Sheng H. et al. [118] виявили, що МСК не тільки зменшують виживання і проліферацію Т-клітин залежним від контакту механізмом, але вони також збільшують частку Т-регуляторних лімфоцитів. Krampfer et al. [119] повідомили, що для інгібуючого ефекту МСК на Т-клітинах потрібна присутність МСК в культурі і контакт МСК-Т-клітини. Крім того, було знайдено раніше, що прямий контакт між МСК і очищеними Т-клітинами, необхідний для індукції Т регуляторних лімфоцитів [120]. Молекули адгезії клітин секретуються МСК, такі як CD 274 (також відомий як запрограмований ліганд смерті 1, адгезія судинних клітин молекула-1 і galectin-1, можуть бути активовані IFN- γ , що не тільки підтримує контакт з

клітинами, але і забезпечує імуномодельючу здатність МСК [121-123]. Взаємодія між клітинами і дія або протидія декількох факторів, що впливають на імунну функцію МСК, є складною системою. Для забезпечення плейотропної імуномодуляції МСК, ймовірно, будуть використовувати як прямий контакт, так і розчинні фактори, які працюють разом для різноманітного і сильного регулювання.

МСК, отримані з кісткового мозку або жирової тканини або інших тканин, були використані для лікування експериментальної тваринної моделі запальних та імунних захворювань. Аутологічні, алогенні і навіть ксеногенні МСК показали велику перспективу в лікуванні. У мишачої моделі хронічної або важкої астми, системне введення МСК зменшує алерген-специфічні IgE і Th2 цитокіни IL-4, IL-5 або IL-13 в бронхіальній рідині і перешкоджає запаленню дихальних шляхів і патологічному ремоделюванню [124]. В експериментальних моделях хвороб, включаючи астму [125], коліт [126], проктит [127], імунні тромбоцитопенії [128] і аутоімунний енцефаломієліт [129], МСК зменшують проліферацію Т-клітин, пригнічують запальні інфільтрати і цитокіни і експресують протизапальні цитокіни. Аналогічним чином, відомий імуносупресивні ефект МСК при тваринній моделі артриту, [130-132] і при розсіяному склерозі [133-135]. У лікуванні системного червоного вовчака, як алогенні кістковомозкові МСК [136], так і ксеногенні МСК отримані з пуповинної крові людини, [137, 138], значно затримували розвиток протеїнурії, відновлювали остеобластную нішу кісткового мозку і ефективно реверсували мультіоргану дисфункцію. МСК, також, схоже, привносять захисні ефекти в інші імунні захворювання, включаючи аутоімунний тиреоїдит [139], аутоімунну міастенію [140], втрату слуху [141] і первинний біліарний цироз [142]. Примітно, що людські МСК продемонстрували ефективну імуномодуляцію в мишачих моделях імунних розладів [143]. Оскільки людські МСК добре переносяться на моделі мишачих захворювань, це передбачає, що людські МСК можуть сприятливо змінити результат запальних реакцій, уникаючи патологій, пов'язаних із

застосуванням крос-видів [144]. Людські ембріональні стовбурові клітини - МСК діють як нові типи клітин. Вони також були досліджені в імунорегуляції і показали обнадійливі результати [145, 146]. Ембріональні МСК людини досягли кращого приживлення і імуномодулюючої ефекту, ніж кістковомозкові МСК в моделі легеневої гіпертензії миші. Інше дослідження продемонструвало імуномодулюючі в мишачій моделі алергічного запалення як у верхніх, так і в нижніх дихальних шляхах. Системне введення людських індукованих плюрипотентних стовбурових клітин значно пригнічує запальну інфільтрацію як в бронхоальвеолярному, так і в носовому лаважі, сироваткові рівні цитокінів IgE і Th2 (IL-4, IL-5 або IL-13) також значно зменшилися. Цікаво, що в порівнянні з дорослими МСК, людські ембріональні стовбурові клітини / індуковані плюрипотентні стовбурові клітини нечутливі до IFN- γ -індукованого людського лейкоцитарного антигену-II (HLA-II) і сприяють більш високій живучості клітин і швидкості приживлення після трансплантації [147]. Ці переваги людських ембріональних стовбурових клітин / індукованих плюрипотентних стовбурових клітин показують, що плюрипотентні МСК можуть служити альтернативою дорослих МСК в майбутньому лікуванні захворювань.

Незважаючи на те, що імуномодулюючі властивості МСК не викликають сумнівів, у даний час недостатньо даних про вплив їх на процеси ХЗ. Для оцінки регуляторного потенціалу МСК у хронічному запаленні ми пропонуємо використовувати визначення рівня TNF- α , IL-6, СРБ [148] в плазмі щурів із запаленням м'яких тканин, індукованим каррагененом лямбда. Також, з огляду на зростаючий інтерес до такого простого прогностичного маркера, як ЛМС [149]; вирішено вивчити його значення для діагностики хронізації запалення в експерименті в кореляції з цитокінами. Дані, які очікуються в результаті проведення цього експерименту, дозволять не тільки зрозуміти, в якій мірі МСК модулюють інтенсивність ХЗ, а й оцінити можливість застосування ЛМС поряд з цитокінами в якості маркера ХЗ.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експеримент був проведений на 132 дорослих самцях лабораторних щурів (вагою 200-220 г, віком 4-5 місяців) у віварії Харківського національного медичного університету. Контролем для природнього перебігу запалення були інтактні щури. Контроль для запалення на тлі введення МСК – щури, яким вводили препарат без подальшого викликання ХЗ (табл 2.1).

Таблиця 2.1

Розподіл тварин за серіями експерименту відповідно до завдань дослідження

№ з/п	Серії експериментів	Кількість тварин
1.	Реакції системи крові за природнього запалення (інтактні щури)	6
2.	Реакції системи крові на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення	6
3.	Реакції системи крові за вторинно хронічного запалення	60
4.	Реакції системи крові за вторинно хронічного запалення на тлі введення МСК	60

Утримання тварин і спосіб їх умиртвіння

Експериментальних тварин утримували на звичайному харчовому раціоні з вільним доступом до води по 10-12 осіб у стандартних металевих клітках. Для виключення впливу сезонних і добових коливань на досліджувані показники основні дослідження були проведені в осінньо-зимовий період, у ранкові години. Дослідження проводилось відповідно до національних "Загальних етичних принципів дослідження тварин" (Україна, 2001 р.), "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що

використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 18.03.1986р.). Також, Хельсінкська декларація, прийнята Генеральною Асамблеєю Світової медичної асоціації (1964-2000), статут Української асоціації з біоетики та GLP (1992). Тварин були випадковим чином розділені на 22 групи з 6 тваринами в кожній групі – мінімальна, прийнятна для статистичного опрацювання та отримання достовірних результатів можлива кількість тварин, а також мінімальна, достатня для досягнення мети та завдань дослідження, кількість експериментальні групи. Тварин умертвляли шляхом вдихання високих концентрацій вуглекислого газу (CO₂) з наступною декапітацією. Лабораторних тварин утримували в окремих клітинах, по 6 щурів у кожній клітці при кімнатній температурі 21 ± 2°C, вологості 45-50%, циклічному режимі світлового дня / темряви 12 годин / 12 годин з 24-годинним доступом до їжі та води. Комітет з питань етики Харківського національного медичного університету схвалив наше дослідження (наказ № 370 від "06" вересня 2017 р. Форма В-5). Дослідження проводили з мінімальними психологічними втратами від експериментальних тварин.

МСК виділяли із кісткового мозку стегнової кістки щурів за стандартною процедурою [150-154] (Рис 2.1). У стерильних умовах кістковий мозок видаляли з епіфізів стегнової кістки щура, потім промивали розчином Хенкса (Біовест, Франція). Клітини центрифугували для їх осадження (1000 об / хв протягом 10 хв). Одноядерні клітини виділяли центрифугуванням у градієнті Фіколя-Гіпаке (щільність 1,077 г / мл) (Sigma, США) при 400 г протягом 25 хв і двічі промивали розчином Хенкса (Biowest, Франція). Після цього клітини ресуспендували у фізіологічному розчині в концентрації $1,0 \times 10^6$ в 1 мл [155, 156]. Загальну кількість та вміст живих клітин підраховували в гемоцитометрі за допомогою забарвлення 0,2% розчином трипанового синього (Janssen Chemicals, Бельгія).

Структуру МСК досліджували за допомогою фазово-контрастного мікроскопа; ми вивчали клітинні цикли за допомогою проточної цитометрії.

Фенотип МСК вивчали за допомогою імуноцитохімічних методів.

Первинні культивовані МСК були овальними, веретеноподібними або багатокутними і прилипали до пластикової поверхні протягом 24 годин і досягали 90% злиття протягом восьми днів. Після очищення та розгону вони мали однаково довгі веретеноподібні форми. Клітини повністю адгезувались протягом 24 годин. Проточна цитометрія показала, що 80% клітин четвертого покоління МСК знаходились у фазі G0. Імуноцитохімія показала, що МСК були позитивним щодо CD29, CD105, CD166, VLA-4 та P-селектину, тоді як негативний для CD34 та CD45.

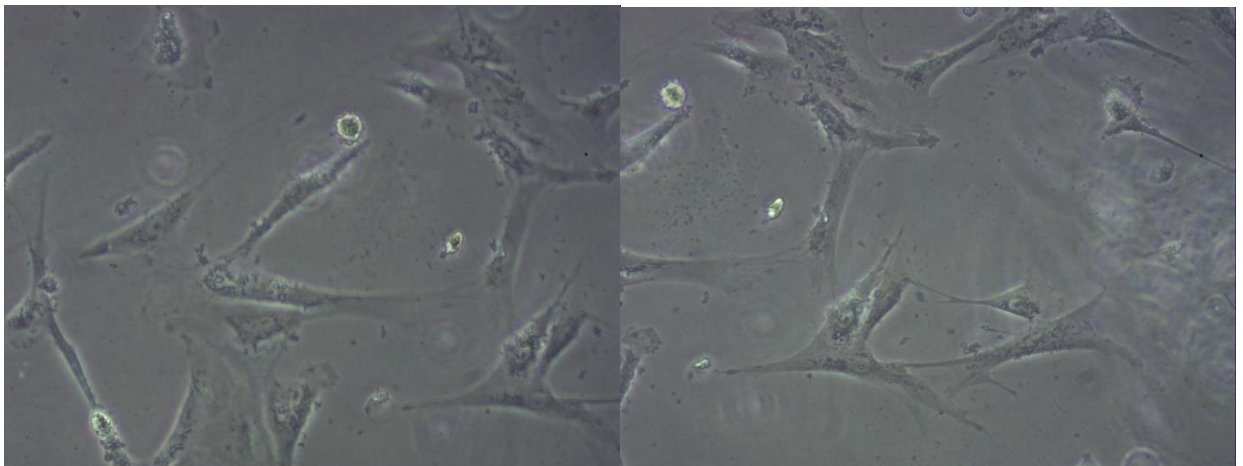


Рис 2.1. Мезенхімальні стовбурові клітини щурів.

ХЗ було викликане внутрішньом'язовим введенням у праве стегно щура 10 мг λ -карагінену (Sigma, США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [157, 158]. Для кожної тварини використовували стерильний шприц об'ємом 1мл з голкою 27G [159]. Речовиною для ін'єкцій був гель, який вимагав повільного введення протягом 10-11 секунд.

Щоб уникнути хворобливого стресу для тварин, усі ін'єкції проводили під адекватною анестезією ізофлураном [159].

Концентрація МСК становила 2 мільйони клітин у 0,4 мл для кожної тварини. МСК вводили в ділянку запалення. Для кожного терміну аналізували 6 щурів із запаленням, викликаним карагіненом, та 6 щурів із

запаленням на тлі введення МСК. Знеболених тварин умертвляли на 6-ту годину, на 1-шу добу, 2-гу добу, 3-тю добу, 5-ту добу, 7-му добу, 10-ту добу, 14-ту добу, 21-шу добу, 28-му добу. Зразки крові отримували шляхом серцевої пункції та збирали у стерильні пробірки. Згусток крові з'явився через 25 - 30 хв, після чого пробірки поміщали у центрифугу та обробляли при 3000 об / хв протягом 10 хв. Плазму отримували і відправляли в морозильну камеру (-20 °С) до проведення аналізу - після 28-го дня експерименту.

Для морфологічного дослідження вогнища запалення в м'язовій тканині стегна експериментальних тварин з місця введення каррагінену та карагінену та МСК вирізали шматочки м'яких тканин, які фіксували в 10 % розчині забуферованого (нейтрального) формаліну, потім піддавали стандартній проводці через спирти зростаючої концентрації, рідину Нікіфорова (96 % спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ, після чого заливали парафіном. З виготовлених таким чином блоків робили серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м. У всіх випадках використовували традиційне гістологічне забарвлення гематоксином і еозином, а також забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном. Кожен досліджуваний випадок піддавали оглядовій мікроскопії, при якій оцінювали морфологічні ознаки фаз запалення, ступінь вираженості та поширеність запального процесу. У препаратах, забарвлених гематоксином і еозином, у кожному випадку також проводили підрахунок клітин запального ряду в центрі і на периферії вогнища запалення у полі зору площею $3,4 \times 10^{-9}$ м². За допомогою методу забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном оцінювали стан сполучної тканини та колагеноутворення в ході запального процесу.

Мікропрепарати вивчали на мікроскопі «Olympus BX-41» з подальшою обробкою з використанням програми «Olympus DP-soft version 3.1» і Microsoft Excel [160, 161], за допомогою яких проводили кількісне цитометричне дослідження, а саме підрахунок клітинних елементів в обмеженому полі зору.

Кістковомозкове кровотворення вивчали шляхом підрахунку загальної кількості мієлокаріоцитів.

Для отримання кісткового мозку виділяли стегнову кістку щура, очищали її від м'яких тканин і ретельно промивали канал 1 мл 3% оцтової кислоти (підфарбованою генціанфіолетовим). Кістковий мозок суспендували та розводили 3% оцтовою кислотою. Підрахунок загальної кількості мієлокаріоцитів на стегно здійснювали за допомогою камери Горяєва [162].

Клітинний склад кісткового мозку досліджували за допомогою мієлограми. Для приготування мазків кісткового мозку, його вилучили з дистального кінця стегнової кістки на знежирене скло і розводили ізологічною сироваткою. Мазки фіксували в метанолі і фарбували азуром II-еозином за методом Романовського-Гімза [162].

Лейкоцитарну реакцію периферичної крові визначали шляхом підрахунку загальної кількості лейкоцитів (ЗКЛ) в крові і лейкоцитарної формули. Підрахунок ЗКЛ здійснювали за допомогою камери Горяєва [161]. Для визначення лейкоцитарної формули мазки крові фіксували в метанолі і фарбували азуром II - еозином [161].

ЛМС у щурів підраховували так само, як і для людини. Ми взяли абсолютну кількість лімфоцитів і розділили їх на абсолютну кількість моноцитів.

Рівні TNF- α , IL-6 та СРБ у плазмі крові вимірювали за допомогою набору імуноферментних аналізів (Sigma-Aldrich GmbH) для кількісного вимірювання цільових маркерів у біологічних рідинах. Ми використовували ELISA для щурів TNF- α (серія RAB № 0479), ELISA для щурів IL-6 (серія RAB номер 0311) ELISA для щурів СРБ (серія RAB № 0097). Всі статистичні розрахунки були проведені за допомогою Statistica (програмна система для аналізу даних), версія 13. Для порівняння ми використовуємо односторонній тест ANOVA, Turkey post hoc test для TNF- α , IL-6 та СРБ для всіх термінів та груп, де $p < 0,05$ було прийнято як статистично значуще.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Реакції системи крові при природному перебігу вторинно хронічного карагієнового запалення

3.1.1. Клітинно-тканинна динаміка вогнища запалення.

При мікроскопічному дослідженні смугастої м'язової тканини стегна щурів контрольної групи при забарвленні гематоксиліном і еозином виявляються рівномірно забарвлені еозином м'язові волокна з ядрами витягнутої форми, що розділені помірно набряклими прошарками пухкої сполучної тканини, які мають червоний колір при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном

На 6-ту годину при забарвленні гематоксиліном і еозином у смугастій мускулатурі виявляється осередок некрозу, який оточений запальною клітинною інфільтрацією, представленою переважно нейтрофільними гранулоцитами (здебільшого сегментоядерними), а також базофільними і еозинофільними лейкоцитами, подекуди присутні малочисельні лімфоцити, моноцити, плазмоцити (рис. 3.1). Дана інфільтрація проникає між м'язовими волокнами та розсуває їх. Спостерігаються явища набряку інтерстицію. М'язові волокна у стані паренхіматозної дистрофії. У кровоносних судинах має місце крайове стояння лейкоцитів, повнокров'я. При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном колагенові волокна червоного кольору розташовані у відповідних місцях пухкої волокнистої і неоформленої сполучної тканини.

На 1-шу добу дослідження в м'язовій тканині щурів спостерігається збільшення щільності розташування клітин у запальному інфільтраті, який представлений подібними елементами, що і у попередньому терміні. Інфільтрат має тенденцію до скупчення. Осередково виявляється тенденція до абсцедування (рис. 3.2). Виражена дифузна інфільтрація виявляється в набряклих перимізії та ендомізії, міоцити дистрофічно змінені.

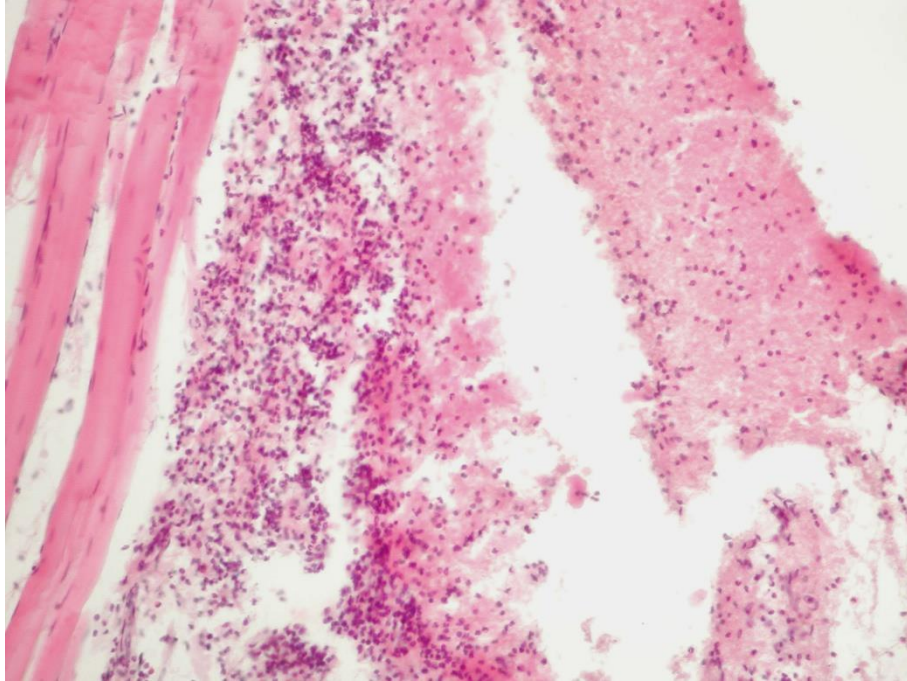


Рис. 3.1 Осередок некрозу в м'язовій тканині, оточений запальною інфільтрацією на 6-ту годину. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

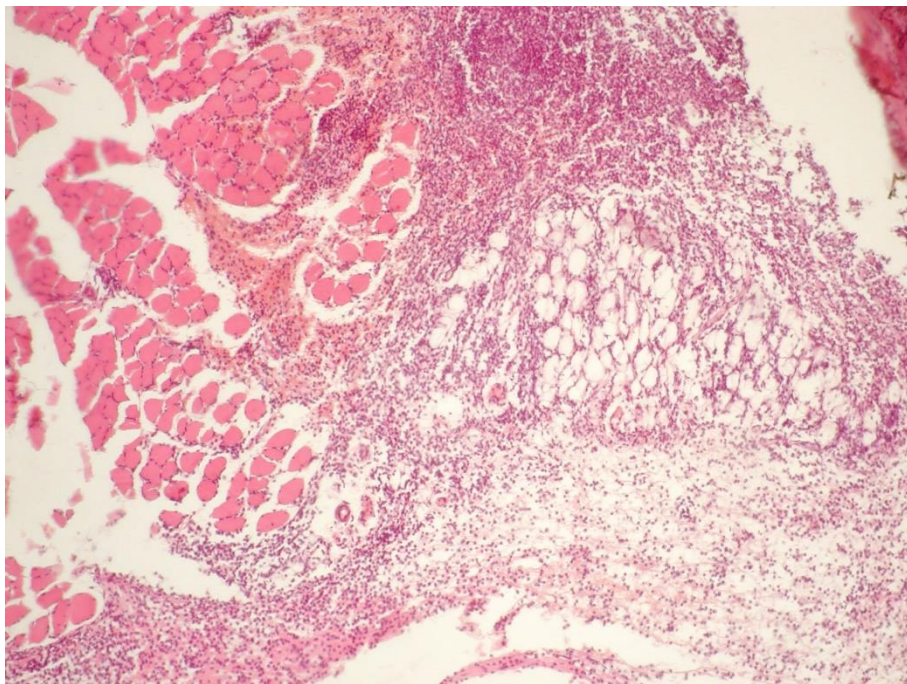


Рис. 3.2 Запальний інфільтрат у м'язовій тканині з тенденцією до абсцедування, розповсюдження ексудату поміж набряклих м'язових волокон на 1-шу добу. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном колагенові волокна розташовані у відповідних зонах пухкої волокнистої, неоформленої сполучної тканини.

В місцях розташування інфільтрату вони стоншені, вкорочені, а подекуди відсутні (рис. 3.3).

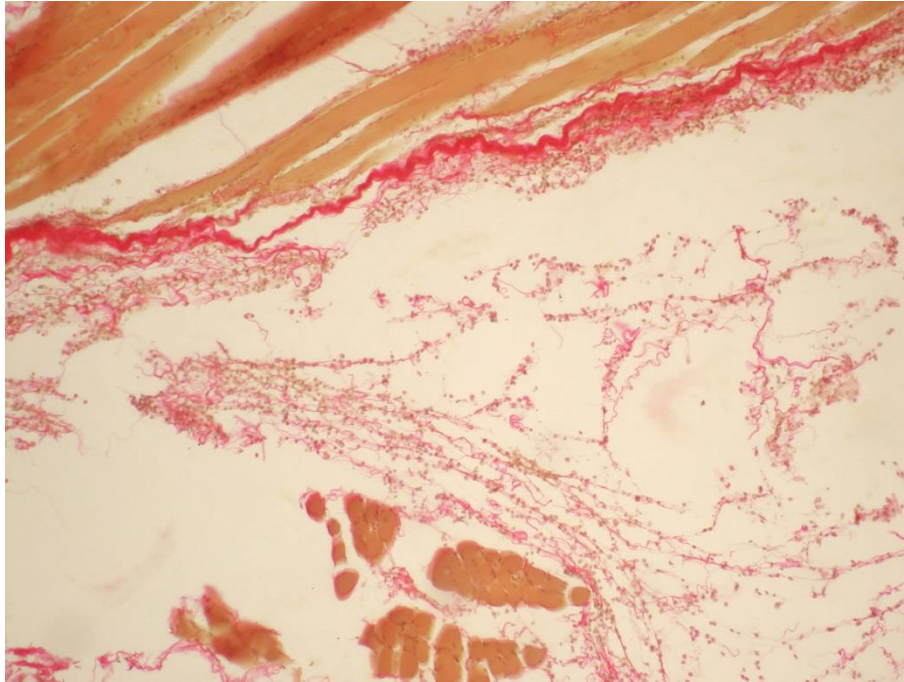


Рис. 3.3 Наявність інфільтрату в інтерстиції, колагенові волокна стоншені, вкорочені, подекуди відсутні на 1-шу добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 200$.

На 2-гу добу дослідження в запальному інфільтраті, який розташований у м'язовій тканині, окрім гранулоцитів виявляються плазмоцити у значній кількості, лімфоцити, моноцити, макрофаги, поодинокі елементи фібробластичного ряду. В периферійних ділянках запалення з'являються малочисельні новоутворені кровоносні судини з тонкими стінками. М'язові волокна набряклі, з дистрофічними змінами. При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном спостерігається наявність колагенових волокон у відповідних місцях розташування, вони стоншені, вкорочені, місцями відсутні.

3-тя доба запалення характеризується тим, що в центральних ділянках запалення щільність клітин знижується, кількість гранулоцитів зменшується, присутні плазмоцити, моноцити, макрофаги, лімфоцити. На периферії серед інфільтрату, представленого макрофагами, моноцитами, плазмоцитами, фібробластичними елементами та подекуди гранулоцитами, знаходяться тонкостінні новоутворені кровоносні судини, тонкі хаотично розташовані сполучнотканинні волокна, що підтверджується при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном (рис. 3.4). В окремих препаратах виявляються регіональні лімфатичні вузли з ознаками гіперплазії лімфоїдної тканини – реактивна гіперплазія у відповідь на запальний процес (рис. 3.5).

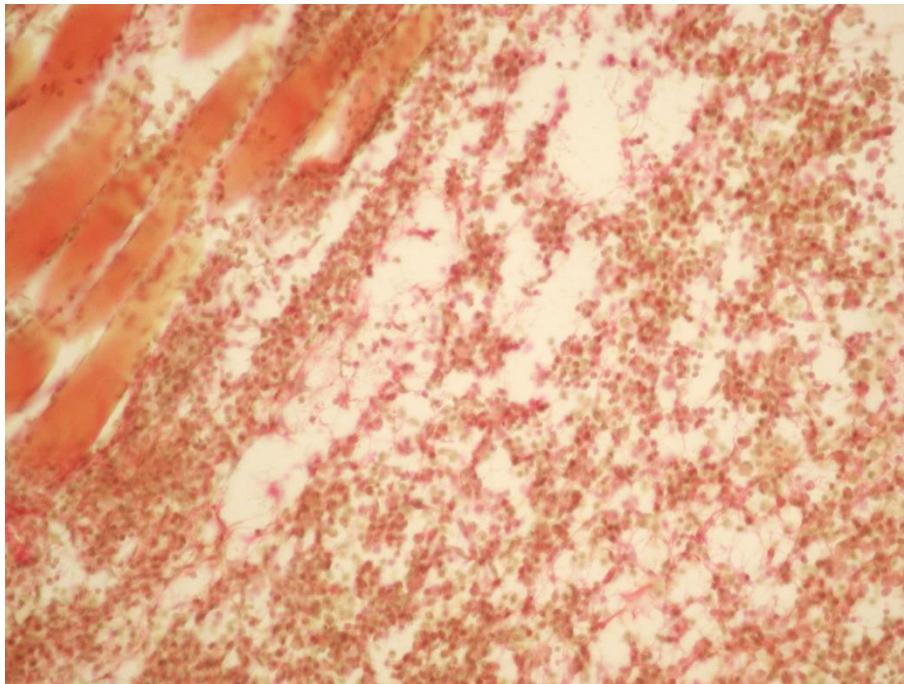


Рис. 3.4 Серед набряклих дистрофічно змінених м'язових волокон розташований запальний інфільтрат, де подекуди знаходяться тонкі колагенові волокна на 3-тю добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 200$.

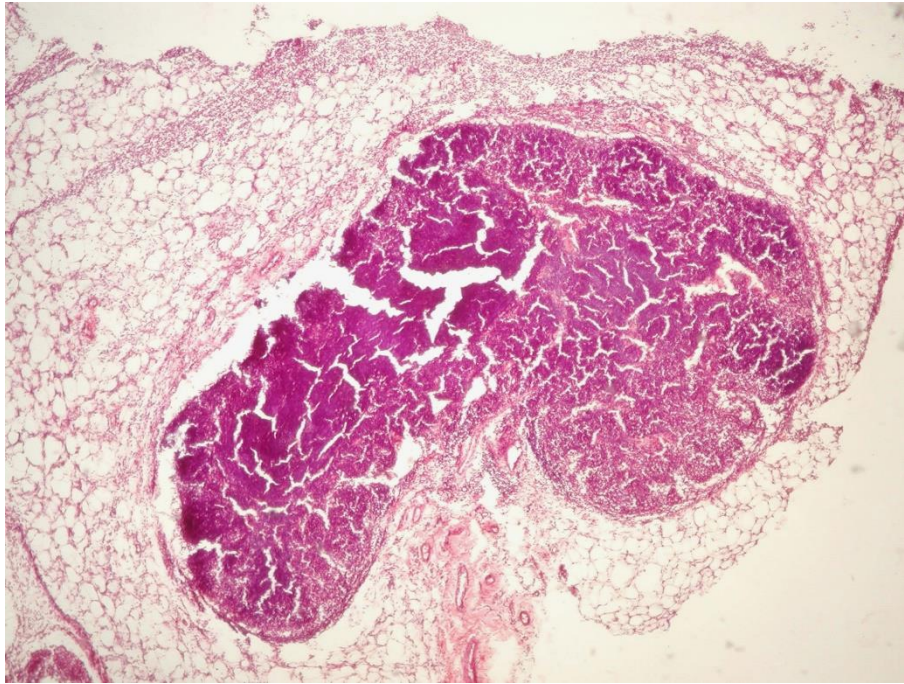


Рис. 3.5 Серед жирової тканини із запальною інфільтрацією виявляється лімфатичний вузол з реактивною гіперплазією на 3-тю добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$.

На 5-ту добу запального процесу в 4 із 6 випадків продовжуються процеси регенерації, що проявляється якісною зміною клітинного складу переважно в центрі (збільшується кількість лімфоцитів, моноцитів, плазмоцитів, макрофагів), у периферійних ділянках продовжується утворення молодих тонкостінних кровоносних судин поміж макрофагів, моноцитів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду (рис. 3.6). У 2 випадках мають місце осередки абсцедування, геморагії, при цьому регенераторні процеси продовжуються у периферійних відділах.

Там також спостерігається процес формування молодих тонкостінних кровоносних судин, щільність клітинного інфільтрату помітно нижче за центральні ділянки. При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном сполучнотканинні волокна тонкі, фуксинофільні (рис. 3.7).

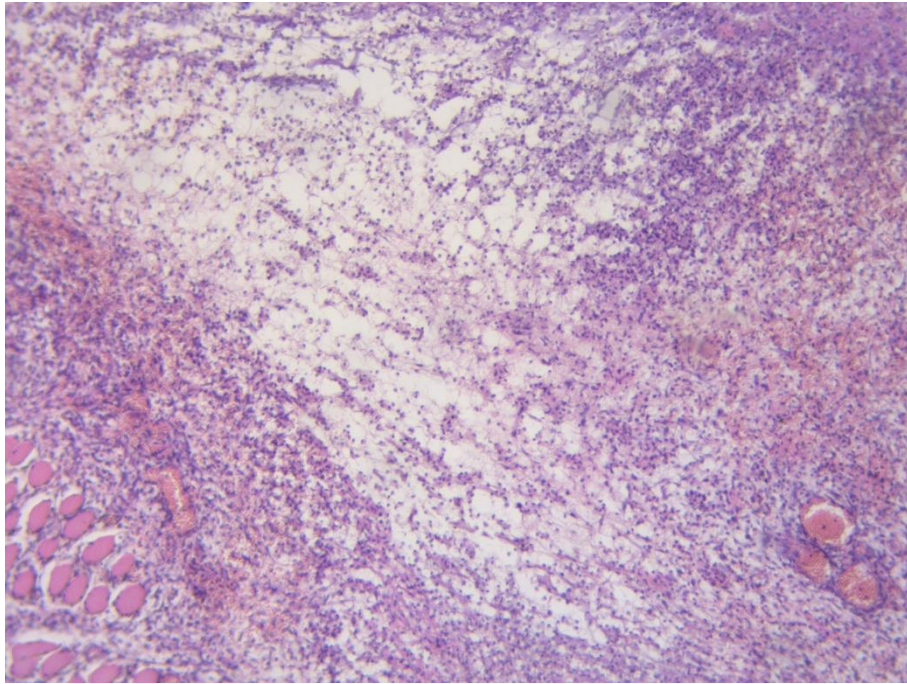


Рис. 3.6 В мікропрепараті у м'язовій тканині виявляється запальний інфільтрат із наявністю молодих тонкостінних кровоносних судин на 5-ту добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

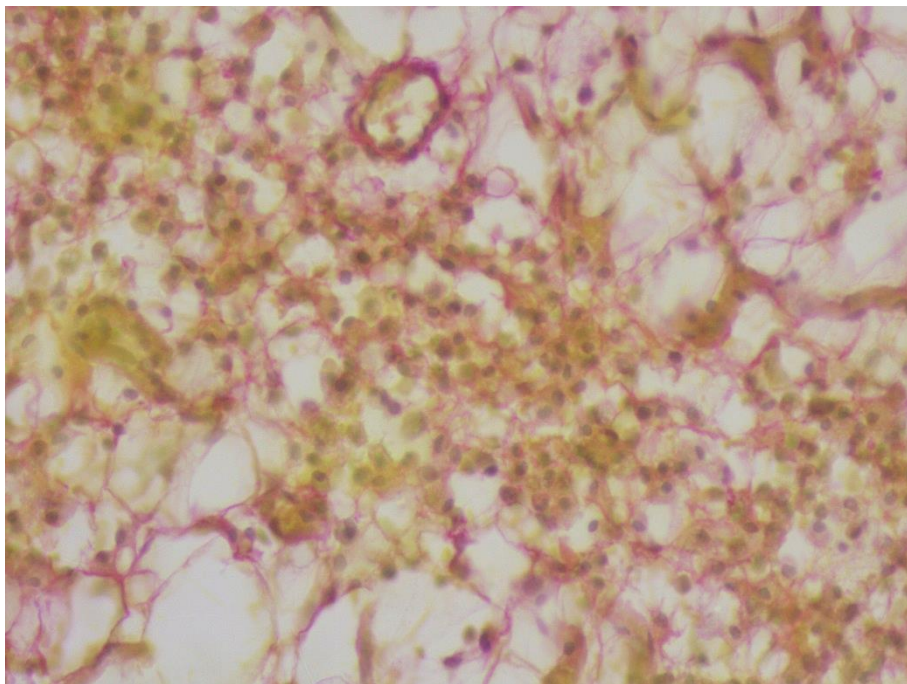


Рис. 3.7 Тонкі фуксифільні сполучнотканинні волокна розташовані серед клітинного складу та в стінці кровоносної судини на 5-ту добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 400$.

На 7-му добу запалення в зоні некрозу спостерігається тенденція до обмеження його площі. У периферійних відділах продовжується утворення сполучнотканинних волокон, які мають ситчастий вид та помітно більшої щільності у порівнянні з попереднім терміном дослідження, кровоносних судин. Клітинний склад інфільтрату представлений переважно макрофагами, лімфоцитами, моноцитами, плазмоцитами, а також фібробластичними елементами. 2 випадки на цьому терміні не мають некротичних змін.

10-та доба дослідження характеризується процесами резорбції некрозу. Клітинний інфільтрат щільний, домінують макрофаги, лімфоцити, присутні плазмоцити, моноцити, елементи фібробластичного ряду, а також серед них є незначна кількість гранулоцитів. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном демонструє наявність товстіших, більших за займану площею сполучнотканинних волокон на периферійних зонах порівняно з попереднім строком дослідження.

На 14-ту добу запалення невеликий осередок некрозу з гранулоцитами все ще присутній, навколо розташовані макрофаги, лімфоцити, клітини фібробластичного ряду, продовжується утворення сполучнотканинних тяжів із периферії, поміж м'язовими волокнами (рис. 3.8).

Мікроскопічна картина вогнища запалення на 21-шу добу демонструє значне зменшення осередку некрозу, навколо якого присутні гранулоцити, лімфоцити, макрофаги. У периферійних ділянках спостерігається велика кількість лімфоцитів та макрофагів. Окремі випадки, де вже повністю немає некротичних мас, характеризуються початком утворення гігантських багатоядерних клітин, сполучнотканинні волокна продовжують збільшувати площу, яку займають (рис. 3.9). Окрім периферійних відділів, з'являються тонкі поодинокі фуксинофільні волокна в центральних ділянках інфільтрату.

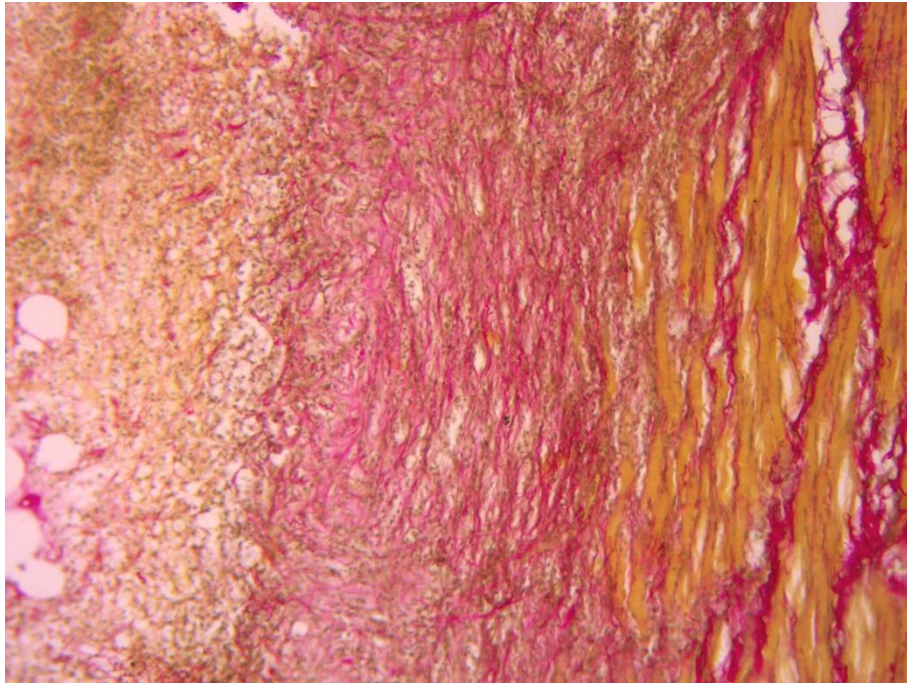


Рис. 3.8 Наявність поліморфно-клітинного запального інфільтрату, формування сполучнотканинних тяжів на периферії, поміж м'язовими волокнами на 14-ту добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 100$.

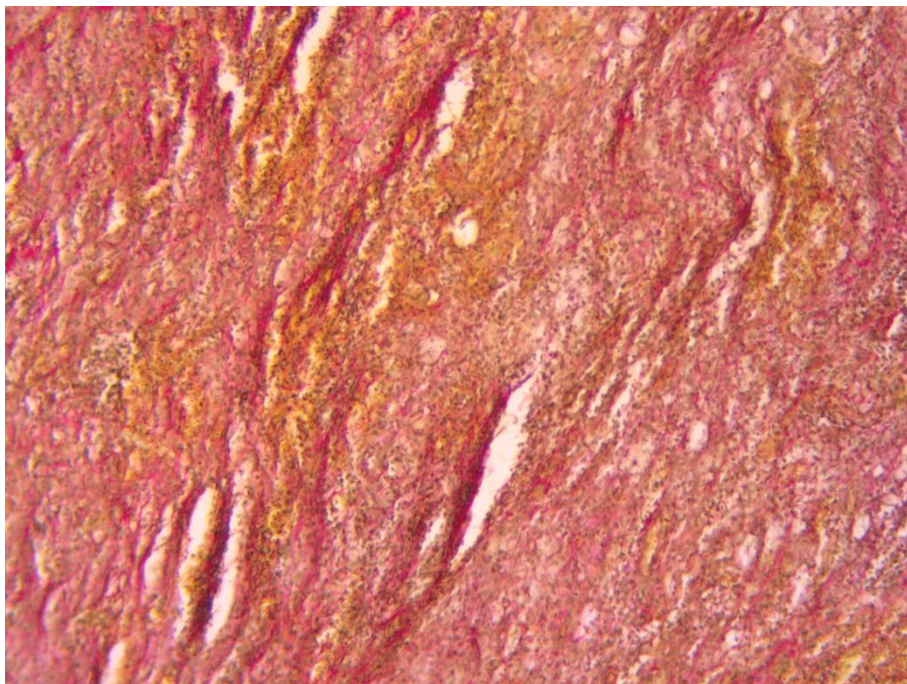


Рис. 3.9 В мікропрепараті виявляється сітка сполучнотканинних волокон, забарвлених у червоно-рожевий колір, поміж клітинного інфільтрату на 21-шу добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 400$.

На 28-му добу експерименту осередок некрозу відсутній. Спостерігається висока клітинна щільність інфільтрату через значну кількість лімфоцитів, макрофагів, також присутні елементи фібробластичного ряду, наявні нечисленні гігантські багатоядерні клітини (рис. 3.10). Кількість кровоносних судин зменшується. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном демонструє в ендо- та перимізії нерізкі або помірні склеротичні зміни, щільну сітку сполучнотканинних волокон у зоні інфільтрату (рис. 3.11). Клітинний запальний інфільтрат, представлений переважно елементами фібробластичного ряду, поодинокі тонкостінні кровоносні судини, наявність гігантських багатоядерних клітин. Серед клітинного інфільтрату дифузно розташовані сполучнотканинні волокна. Наявні і значно виражені ознаки ХЗ, які достовірно виражені саме на 28-му добу, що відповідає хронізації запального процесу, а саме: деградація тканинних елементів та клітинного складу вогнища запалення.

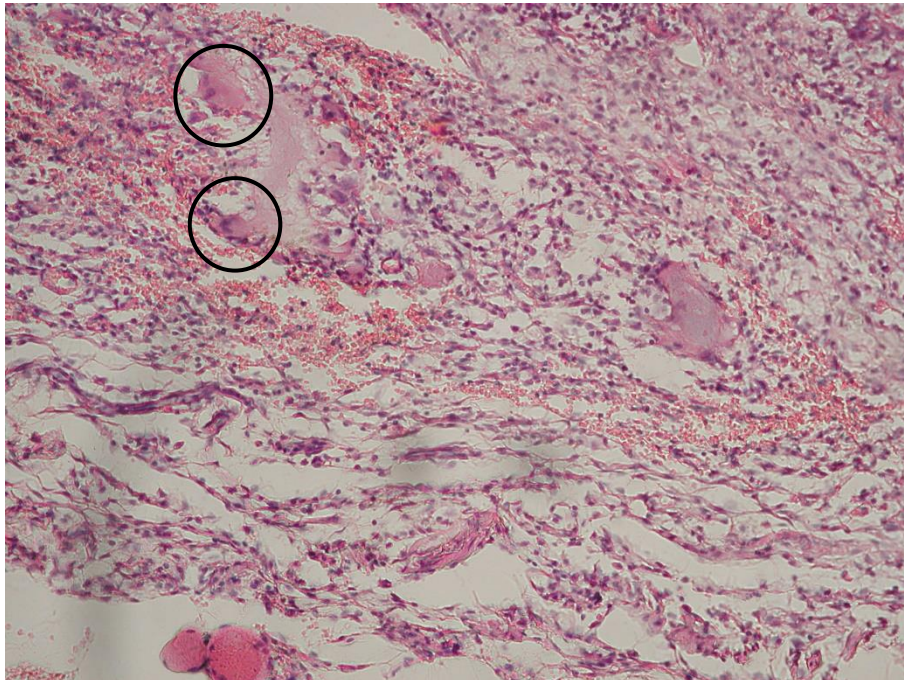


Рис. 3.10 Клітинний запальний інфільтрат, представлений переважно елементами фібробластичного ряду, поодинокі тонкостінні кровоносні судини, наявність гігантських багатоядерних клітин (взяті у коло) на 28-му добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

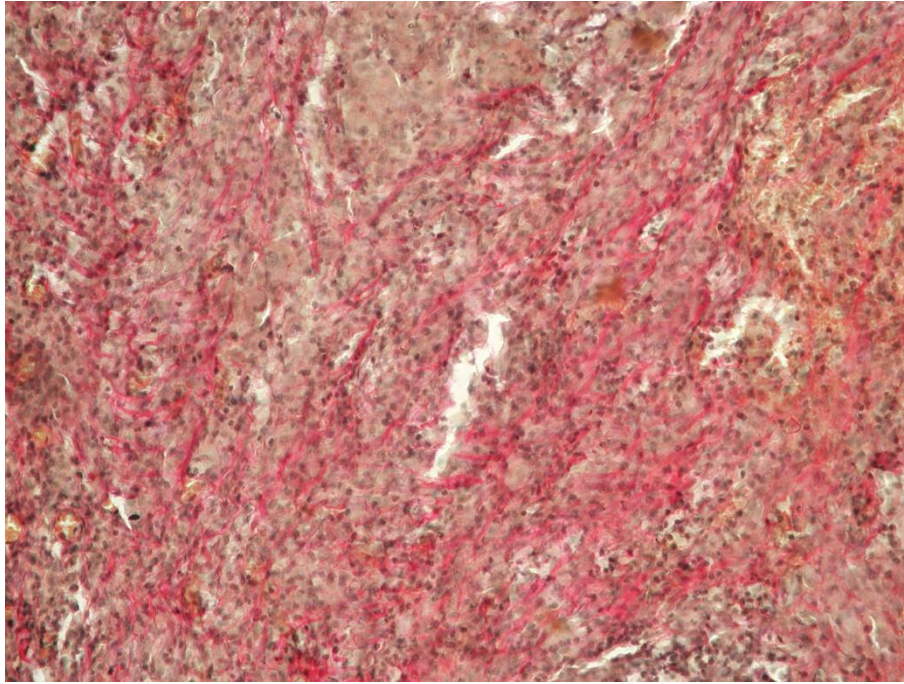


Рис. 3.11. Серед клітинного інфільтрату дифузно розташовані сполучнотканинні волокна на 28-му добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 400$.

3.1.2 Клітинний склад центру вогнища запалення при природньому перебігу запалення.

Кількість нейтрофілів у центрі вогнища із звичайним перебігом запалення (табл. 3.1) на одиницю площі тканини (на $1,6 \times 10^{-9} \text{ м}^2$) на 6-й годині запалення різко зросла порівняно з контролем (69,79 разів, $p \leq 0,001$).

У 1-шу добу вона збільшується ще більше (у 164,93 рази, $p \leq 0,001$). Пік вмісту нейтрофілів спостерігається на 2-гу добу, перевищуючи контроль (209,6 рази, $p \leq 0,001$). На 3-тю добу він трохи зменшується порівняно з 2-ою добою, але все ще залишається підвищеним, перевищуючи контроль (94,88 рази, $p \leq 0,001$). Кількість нейтрофілів на 5-ту – 28-му доби при звичайному перебігу запалення зменшується, але все ж значно перевищує контроль (відповідно, 58,88 разів, $p \leq 0,001$; 44,48 разів, $p \leq 0,001$, 34,64 рази, $p \leq 0,01$, 21,81 разів, $p \leq 0,001$, 16,36 разів, $p \leq 0,001$, 5,97 разів, $p \leq 0,01$).

Таблиця 3.1

Динаміка змін клітинного складу центру вогнища запалення за природнього перебігу вторинно хронічного запалення (абсолютне число клітин на $1,6 \times 10^{-9} \text{ м}^2$), (M±m, n=6)

Терміни дослідження	Нейтрофіли	Базофіли	Еозинофіли	Лімфоцити	Моноцити	Плазмоцити	Макрофаги	Тканинні базофіли	Клітини фібробластич. ряду
Контроль	0,33±0,08	0,28±0,08	0,36±0,08	0,61±0,09	0,58±0,09	0,22±0,09	0,19±0,08	0,31±0,07	-
6 годин	23,03±0,35	21,6±0,29 ^^	6,00±0,18^^^	8,03±0,21^^^	8,03±0,23^^^	2,0±0,15^^	1,43±0,16^	2,26±0,19^	-
1-а доба	54,43±0,38*	40,8±0,28^^^*	16,4±0,18^^^	12,46±0,19^^	5,31±0,08^^	2,23±0,13^^	3,03±0,17^	3,4±0,18^	
2-а доба	69,17±0,41	60,4±0,19^^^	4,2±0,17^^^	14,49±0,18^^	11,54±0,18^^^	19,37±0,21^^^	5,29±0,15^*	8,40±0,18^^	0,23±0,07
3-я доба	31,31±0,32*	45,06±0,28^^^	3,26±0,14^^	12,09±0,23^^^	26,4±0,17^^^	30,31±0,18^^^	15,43±0,11^^^	2,17±0,14^	1,94±0,12
5-а доба	19,43±0,15	20,49±0,10^^^	1,23±0,14^**	31,6±0,21^^^*	29,03±0,18^^^	35,09±0,17^^^	19,54±0,14^^^	2,34±0,08^	3,03±0,09*
7-а доба	14,68±0,19	15,89±0,15^^	0,97±0,09*	18,57±0,18^^^	10,48±0,14^^^	10,43±0,14^^^	25,02±0,19^^^	1,6±0,10^	1,71±0,11
10-а доба	11,43±0,15	8,51±0,18^*	1,14±0,11	20,85±0,11^^^	10,69±0,12^^^	12,08±0,19^^^	20,54±0,14^^^	2,14±0,11^	5,26±0,14
14-а доба	7,2±0,13^^^	7,37±0,14	1,29±0,0	8,83±0,17^^**	5,06±0,13^^*	8,85±0,20^^^	25,14±0,24^^^	2,14±0,12^	9,83±0,19
21-а доба	5,4±0,09^^^	4,2±0,09*	0,91±0,05	35,09±0,13^^^	3,77±0,14^^	4,34±0,09^^	15,14±0,11^^	2,06±0,08	5,66±0,14
28-а доба	1,97±0,13^^*	3,06±0,09	1,03±0,09	30,37±0,19^^^	4,2±0,11^^	6,09±0,13^^	10,94±0,14^^	2,06±0,14^	35,14±0,16***

Примітка: ^ - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ^^ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем; ^^ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем; * - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) у порівнянні з попереднім терміном; ** - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; *** - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном.

Таким чином, вміст нейтрофілів значно збільшився з максимумом на 2-гу добу і достовірно відрізнявся від контролю.

Кількість еозинофілів при нормальному перебігу запалення на 6-ту годину була значно збільшена в порівнянні з контролем у 16,67 разів. У 1-шу добу вміст еозинофілів максимально підвищений і значно перевищує контроль (у 45,56 разів, $p \leq 0,001$). З 2-ої по 5-ту добу кількість еозинофілів поступово знижувалась центрі вогнища запалення, значно перевищуючи контроль (у 11,67 разів, $p \leq 0,001$; 9,06 рази, $p \leq 0,01$; 3,42 рази, $p \leq 0,05$). З 7-ої по 28-му доби вміст еозинофілів суттєво не відрізнявся від контролю.

Таким чином, кількість еозинофілів збільшується з 6-ої години до 5-ої доби з максимумом на 1-шу добу, що характерно для природнього перебігу запалення.

Кількість моноцитів на 6-ій годині при нормальному перебігу запалення було суттєво збільшена порівняно з контролем (13,84 разів, $p \leq 0,001$). На 1-шу добу вміст моноцитів дещо знизився, але залишався достовірно вищим, ніж в групі контролю (9,1 разів, $p \leq 0,01$)

З 2-ої до 5-ої доби ми спостерігаємо поступове значне збільшення вмісту моноцитів (відповідно, у 19,9 рази, $p \leq 0,001$; 45,5 разів, $p \leq 0,001$; 50,05 раз, $p \leq 0,001$). До 7-ої - 10-ої доби вміст моноцитів зменшується відносно попередніх періодів, але все ще значно перевищує контроль (відповідно у 18,07 рази, $p \leq 0,001$ та 18,43 рази, $p \leq 0,001$).

З 14-ої доби і до кінця експерименту вміст моноцитів поступово знижувався, але все ще перевищував контроль (відповідно у 8,72 рази, $p \leq 0,01$, 6,5 рази, $p \leq 0,01$ та 7,24 рази, $p \leq 0,01$).

Таким чином, кількість моноцитів значно збільшується протягом усього експерименту, що характерно для ХЗ.

Вміст лімфоцитів протягом 6-ти годин при нормальному перебігу запалення збільшується порівняно з контролем (13,16 разів, $p \leq 0,001$). З 1-ої по 3-тю доби кількість лімфоцитів значно збільшується порівняно з 6-ою годиною а також значно перевищує контроль. Пік лімфоцитарної реакції

спостерігається на 21-шу добу, перевищуючи контроль (у 57,52 рази, $p \leq 0,001$). На 14-ту добу кількість лімфоцитів суттєво зменшується в порівнянні з 10-ою добою, але все ж значно перевищує контроль (14,48 разів, $p \leq 0,001$). На 21-шу і на 28-му добу експерименту спостерігається найбільш виражена тенденція до збільшення вмісту лімфоцитів.

Таким чином, число лімфоцитів значно зростає протягом усього дослідження. Спостерігається фазність цих змін. Така динаміка лімфоцитарної реакції вогнища вторинно ХЗ, коли кількість лімфоцитів збільшується з самого початку запалення характерна для ХЗ, на відміну від гострого, де вміст лімфоцитів спочатку значно знижений порівняно з кількістю його в незапальній тканині, а потім поступово відновлюється. При цьому наростання лімфоцитарної реакції вогнища з початком запалення характерне для хронізуючого запалення, а подальше зростання відображає подальшу хронізацію процесу. Як видно, динаміка лімфоцитів у вогнищі карагіненового запалення схожа з динамікою моноцитів, що характерно для ХЗ.

Вміст плазматичних клітин на 6-ту годину і 1-шу добу при звичайному перебігу запалення збільшується порівняно з контролем (відповідно в 9,09 разів, $p \leq 0,01$ та 10,14 разів, $p \leq 0,01$). На 2-ту – 5-ту доби кількість плазматичних клітин істотно збільшується порівняно з попереднім терміном, достовірно перевищуючи контроль відповідно (в 88,05 раз, $p \leq 0,001$; 137,77 разів, $p \leq 0,001$; 159,5 разів, $p \leq 0,001$).

З 7-ої по 28-му доби кількість плазматичних клітин поступово істотно знижується порівняно з попередніми термінами, але все ж продовжує достовірно перевищувати контроль (відповідно в 47,4 раза, $p \leq 0,001$; 54,9 рази, $p \leq 0,001$, у 40,23 раза, $p \leq 0,001$; 19,72 раза, $p \leq 0,01$; 27,68 раза, $p \leq 0,01$).

Таким чином, кількість плазматичних клітин значно збільшується в усі терміни дослідження. Істотне збільшення числа плазмоцитів в осередку є результатом вираженої лімфоцитарної реакції вогнища, оскільки плазмоцити

утворюються внаслідок плазматизації лімфоцитів. Динаміка плазмоцитів в осередку схожа з динамікою лімфоцитів.

Відомо, що плазмоцити є продуцентами антитіл під регулюючим впливом Т-лімфоцитів. Виражена плазмоцитарна реакція вогнища свідчить про значну стимуляцію гуморального й клітинного імунітету, характерною для вторинно ХЗ.

Спостерігається тенденція до збільшення числа макрофагів при звичайному перебігу запалення на 6-ту годину, 1-шу і 2-гу доби. Починаючи з 3-ої доби й до закінчення експерименту спостерігається достовірне підвищення вмісту макрофагів. Але водночас спостерігається з 3-ої до 14-ої доби поступове та хвилеподібне суттєве збільшення кількості макрофагів (відповідно в 81,21 разів, $p \leq 0,001$; 102,84 рази, $p \leq 0,001$; 131,68 разів, $p \leq 0,001$; 108,1 раз, $p \leq 0,001$, в 132,31 рази, $p \leq 0,001$). На 21-шу – 28-му доби вміст макрофагів незначно знижується в порівнянні з 10-ою добою, але продовжує залишатися достовірно підвищеним в порівнянні з контролем (відповідно в 79,68 раз $p \leq 0,01$; 57,58 рази, $p \leq 0,01$).

Таким чином, кількість макрофагів за природнього перебігу запалення на 1-шу добу запалення характеризується тенденцією до збільшення, а з 3-ої і до 28-ої доби – наростаючим достовірним підвищенням. Істотне зростання кількості макрофагів в осередку запалення є результатом вираженої моноцитарній реакції, оскільки в осередку моноцити перетворюються на макрофаги. У зв'язку з цим динаміка макрофагів в осередку запалення в цілому схожа з динамікою моноцитів.

До того ж, звертає на себе увагу запізнювання макрофагальної реакції порівняно з моноцитарною, що пояснюється потребою в часі для перетворення моноцитів на макрофаги (27,07 рази, $p \leq 0,01$).

Кількість тканинних базофілів на 6-ту годину характеризується тенденцією до збільшення (у 7,29 рази, $p \leq 0,05$). Ця тенденція зростає до 2-ої доби і відповідає піку їх числа на 2-гу добу (відповідно у 10,97 рази, $p \leq 0,05$, у 27,07 рази, $p \leq 0,01$).

З 3-ої до 28-ої доби спостерігається зниження кількості тканинних базофілів порівняно з попередніми термінами, але кількість тканинних базофілів вища до кінця експерименту в порівнянні з контролем.

Таким чином, вміст тканинних базофілів достовірно збільшується з піком на 2-гу добу. Його підвищення, очевидно, пояснюється надходженням у кров і навіть в осередок кістковомозкових тканинних базофілів. Відсутність достовірного збільшення числа тканинних базофілів у перші три доби, очевидно, пояснюється тим, що в цей початковий період вторинно ХЗ відбувається виражена дегрануляція названх клітин, яка в подальшому стихає.

Фібробласти в контролі при звичайному перебігу запалення в м'яких тканинах стегна не виявляють. Не виявляються вони також і на 6-ту годину, 1-шу добу запалення. На 2-гу добу відзначається невелика кількість клітин ($0,23 \pm 0,07$ екз. на прийнятну одиницю площі), яка в подальшому поступово зростає, так що максимум його виявляється на 28-му добу ($35,14 \pm 0,16$)

Таким чином, при розвитку вогнища вторинно ХЗ спостерігається виражена лейкоцитарна інфільтрація запаленої тканини. При цьому відзначається виражена нейтрофільна й еозинофільна інфільтрація протягом перших 3-ох діб запалення. Відбувається також значна плазматизація лімфоцитів, що, очевидно, свідчить про активації гуморального й клітинного імунітету. Спостерігається також виражена макрофагальна реакція, яка свідчить, з одного боку, про перетворення моноцитів на макрофаги, а з іншого – про активацію резидентних макрофагів. Відзначається виражена реакція з боку тканинних базофілів. У початкові терміни запалення (до 3-ої доби) переважає їх дегрануляція, потім прогресуюче накопичення. Розвивається прогресуюча фібробластична реакція сполучної тканини.

3.1.3. Клітинний склад периферії вогнища запалення за вторинно хронічного запалення.

Число нейтрофілів на 6-ту годину за природнього перебігу ХЗ значно збільшується порівняно з контролем (у 60,53 разів, $p \leq 0,001$). На 1-шу добу вона зростає ще більше й достовірно перевищує контроль (86,84 рази, $p \leq 0,001$). На 2-шу добу кількість нейтрофілів зростає ще більше порівняно з попереднім терміном, достовірно перевищуючи контроль (133,76 рази, $p \leq 0,001$), що відповідає максимальному збільшенню вмісту нейтрофілів у протягом експерименту (табл. 3.2).

На 3-тю – 10-ту доби число нейтрофілів незначно знижується, якщо зіставити з попередніми термінами, але все ж достовірно перевищує контроль (відповідно в 29,47 разів, $p \leq 0,001$, в 19,32 рази, $p \leq 0,001$, в 28,5 разів, $p \leq 0,001$). Починаючи з 14-ої і до 28-ої доби вміст нейтрофілів істотно знижується порівняно з 6-ою годиною – 3-ою добою, але все ж достовірно перевищує контроль (відповідно 13,44 рази, $p \leq 0,01$; 8,42 рази, $p \leq 0,5$; 4,97 рази, $p \leq 0,05$).

Таким чином, кількість нейтрофілів значно збільшується протягом 3-ох діб, і в наступні терміни поступово знижується, проте залишається достовірно вищою у порівнянні з контролем.

Таблиця 3.2

Динаміка змін клітинного складу периферії вогнища запалення за природнього перебігу вторинно хронічного запалення (абсолютне число клітин на $1,6 \times 10^{-9} \text{ м}^2$), ($M \pm m$, $n=6$)

Терміни дослідження	Нейтрофіли	Базофіли	Еозинофіли	Лімфоцити	Моноцити	Плазмоцити	Макрофаги	Тканинні базофіли	Клітини фібробластич. ряду
Контроль	0,38±0,47	0,28±0,08	0,36±0,08	0,61±0,09	0,58±0,09	0,22±0,09	0,19±0,08	0,31±0,07	-
6 годин	23,0±0,33 ^{^^}	23,06±0,4 ^{^^}	4,37±0,22 ^{^^}	8,0±0,18 ^{^^}	5,31±0,19 [^]	2,37±0,11	1,4±0,9	3,06±0,21	-
1-а доба	33,0±0,33 ^{^^}	34,05±0,27 ^{^^}	12,09±0,22 ^{^^}	8,0±0,19 ^{^^}	4,06±0,15 [^]	4,2±0,17 ^{^*}	3,29±0,18 ^{^^}	3,97±0,17 [^]	-
2-а доба	50,83±0,19 ^{^^}	46,43±0,19 ^{^^}	8,23±0,26 ^{^^}	19,69±0,23 ^{^^}	22,0±0,19 ^{^^}	18,06±0,26 ^{^^}	7,37±0,25 ^{^^}	8,54±0,19 ^{^^}	0,4±0,07
3-а доба	11,20±0,16 ^{^^}	11,29±0,17 ^{^^}	5,23±0,14 ^{^^}	10,94±0,24 ^{^^}	20,09±0,16 ^{^^}	20,37±0,14 ^{^^}	26,54±0,22 ^{^^}	4,46±0,14 ^{^^*}	9,23±0,19 ^{^^*}
5-а доба	7,34±0,14 ^{^^}	7,97±0,10 ^{^^}	3,0±0,12 ^{^^}	26,06±0,18 ^{^^}	19,97±0,13 ^{^^}	21,74±0,57 ^{^^}	28,6±0,24 ^{^^}	2,23±0,12	12,17±0,22
7-а доба	10,83±0,17 ^{^^}	4,94±0,12 ^{^*}	7,14±0,15 ^{^^}	28,2±0,18 ^{^^}	10,57±0,18 ^{^^}	12,2±0,2 ^{^^}	30,49±0,16 ^{^^}	1,94±0,12	17,66±0,16
10-а доба	8,83±0,17 ^{^^}	8,4±0,15 ^{^^}	8,17±0,17 [^]	32,06±0,29 ^{^^}	15,03±0,14 ^{^^}	20,77±0,14 ^{^^}	35,20,16 ^{^^}	3,06±0,09 [^]	30,77±0,15
14-а доба	5,11±0,11 ^{^^}	8,14±0,19 ^{^^}	4,03±0,13 ^{^*}	50,97±0,19 ^{^^}	20,8±0,12 ^{^^}	12,110,19 ^{^^}	30,46±0,18 ^{^^}	3,06±0,15 [^]	28,4±0,23
21-а доба	3,2±0,09 [^]	7,54±0,13 ^{^^}	3,69±0,09	65,31±0,19 ^{^^}	10,83±0,13 ^{^^}	8,45±0,09 ^{^^}	30,66±0,14 ^{^^}	3,09±0,1 [^]	28,74±0,14
28-а доба	1,89±0,08 ^{^*}	4,03±0,11 [^]	2,06±0,12	60,6±0,21 ^{^^}	12,2±0,13 ^{^^}	10,34±0,17 ^{^^}	15,54±0,11 ^{^^}	3,06±0,12 [^]	35,14±0,16

Примітка: ^ - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ^^ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем; ^^ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем; * - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) у порівнянні з попереднім терміном; ** - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; *** - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном.

Кількість еозинофілів на 6-ту годину запалення достовірно зростає порівняно з контролем (82,36 рази, $p \leq 0,001$). Число еозинофілів продовжує зростати на 1-му добу (121,6 рази, $p \leq 0,001$). Спостерігається максимальне збільшення вмісту еозинофілів на 2-гу добу в порівнянні з контролем та попередніми термінами (165,82 рази, $p \leq 0,001$). На 3-тю добу кількість еозинофілів також залишається підвищеною, достовірно перевищуючи контроль (40,32 рази, $p \leq 0,001$). З 5-ої до 28-ої доби кількість еозинофілів нижча, ніж в попередні строки, але змінюється хвилеподібно і залишається достовірно підвищеною проти контролю (відповідно у 28,46 рази, $p \leq 0,01$; 17,64 рази, $p \leq 0,05$; 30 разів, $p < 0,01$; 29,7 рази, $p \leq 0,01$; 26,92 рази, $p \leq 0,01$, 14,39 рази, $p \leq 0,05$). На 21-шу – 28-му добу кількість еозинофілів статистично не відрізняється від контролю.

Таким чином, кількість еозинофілів значно підвищується на 1-шу і 2-гу добу, досягаючи максимальних значень, і також зберігається достовірно підвищення кількості еозинофілів порівняно з контролем протягом усього експерименту.

Кількість лімфоцитів на 6-ту годину і 1-шу добу значно збільшується порівняно з контролем (в 13,1 рази, $p \leq 0,01$). З 2-ої по 3-тю добу вміст лімфоцитів значно хвилеподібно збільшується, достовірно перевищуючи контроль (відповідно до 32,27 рази, $p < 0,001$; 17,93 рази, $p \leq 0,001$). З 5-ої по 28-му доби вміст лімфоцитів стрімко зростає, достовірно перевищує контроль (відповідно до 42,72 рази, $p \leq 0,001$; 46,23 рази, $p \leq 0,001$, 52,56 рази, $p \leq 0,001$, 83,56 рази, $p \leq 0,001$, 107,07 рази, $p \leq 0,001$, 99,34 рази, $p \leq 0,001$).

Таким чином, кількість лімфоцитів залишається підвищеною в усі терміни дослідження з максимальним підвищенням на 21-шу і 28-му доби експерименту.

Кількість моноцитів на 6-ту годину та на 1-шу добу достовірно збільшується порівняно з контролем (в 9,15 рази, $p \leq 0,05$ та в 7 разів, $p \leq 0,05$). На 2-гу добу реєструється пікове значення кількості моноцитів, яке достовірно перевищує контроль та попередні терміни (в 37,93 рази, $p \leq 0,001$).

З 3-ої по 28-му доби кількість моноцитів змінюється хвилеподібно з тенденцією до зниження числа моноцитів, але з достовірною відмінністю від (вища відповідно в 34,64 раза, $p \leq 0,001$, 34,43 рази, $p \leq 0,001$, 18,22 рази, $p \leq 0,001$, 25,9 рази, $p \leq 0,001$, 35,86 рази, $p \leq 0,001$, 18,67, $p \leq 0,001$, 21,03, $p \leq 0,001$).

Таким чином, вміст моноцитів підвищений у всі терміни дослідження з піком на 1-шу добу.

Кількість плазмоцитів на 1-шу добу значно підвищується порівняно з контролем (19,09 раза, $p \leq 0,05$). Далі вона поступово зростає до 5-ої доби, коли досягає піку, перевищуючи контроль (98,82 рази, $p \leq 0,001$). На 7-му добу вміст плазмоцитів незначно знижується у зіставленні з попереднім строком, достовірно перевищуючи контроль (57,9 раза, $p \leq 0,001$). На 10-ту добу спостерігається другий пік підвищення кількості плазмоцитів, перевищуючи контроль (94,4 рази, $p \leq 0,001$). З 14-ої до 28-ої доби кількість плазмоцитів достовірно перевищує контроль (відповідно в 41,48 от раза, $p \leq 0,001$; в 38,71 раза, $p \leq 0,001$; у 37,90 раза, $p \leq 0,001$).

Таким чином, кількість плазмоцитів значно збільшена в усі терміни дослідження. При цьому відзначаються дві фази підвищення їх числа: на 3-тю - 5-ту доби, з піком на 5-ту добу (максимум) і на 10-ту добу.

Вміст макрофагів на 1-шу добу достовірно збільшується порівняно з контролем (17,31 раза, $p \leq 0,01$). У подальшому він поступово зростає до 10-ої доби, коли досягає максимуму, що перевищує контроль в 185,26 разів ($p \leq 0,001$). На 14-ту та 21-шу доби рівень макрофагів майже однаковий з 7-ою добою, на 28-му добу він дещо нижчий, але значно перевищує контроль (81,8 раза, $p \leq 0,001$).

Таким чином, вміст макрофагів збільшений в усі терміни дослідження, з максимальною кількістю макрофагів на 10-ту добу.

Вміст тканинних базофілів 1-ої доби достовірно збільшений (у 12,8 раза, $p \leq 0,05$). Далі він зростає до 2-ої доби, досягаючи піку і перевищує контроль (у 27,54 раза, $p \leq 0,01$). З 3-ої доби він поступово знижується

порівняно з 2-ою добою до 7-ої доби, а потім, з 10-ої до 28-ої доби залишається приблизно на одному рівні, достовірно перевищуючи контроль в 9,87 разів ($p \leq 0,05$) на 28-му добу.

Таким чином, кількість тканинних базофілів підвищена у всі терміни дослідження з максимумом на 2-гу добу.

Фібробласти відсутні в контролі на 6-ту годину і 1-шу добу. Вони виявляються на 2-гу добу в невеликій кількості ($0,4 \pm 0,07$ екз. на прийняту одиницю площі тканини). Надалі їх вміст хвилеподібно змінюється з тенденцією до підвищення до кінця дослідження (28-ма доба), максимально до $5,14 \pm 0,16$ екз. на прийняту одиницю площі тканини.

Відповідно, виявляють фібробласти з 2-ої доби, і їх кількість поступово збільшується з піком на 28-му добу.

3.1.4. Кістковомозкове кровотворення у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.

При природньому перебігу запалення відмічалися хвилеподібні зміни в загальній кількості мієлокаріоцитів (табл. 3.3).

Відмічалось достовірне підвищення в порівнянні з контролем на 1-шу добу, 21-шу і 28-му доби (відповідно в 2,46 рази, $p < 0,05$; 3,9 рази, $p < 0,001$ і 2,85 рази, $p < 0,05$). Спостерігається декілька хвиль показового збільшення кількості мієлокаріоцитів. Одна хвиля співпадає з активізацією гемопоезу, за рахунок вираженої нейтрофільної реакції. Інші дві хвилі підвищення числа мієлокаріоцитів свідчать про подальшу активацію гемопоезу в зв'язку з хронізацією запалення.

Крім того, при природньому перебігу запалення ЗКК на 6-ту годину достовірно знижено в порівнянні з контролем в 1,67 рази, $p < 0,05$. Це, ймовірно, пов'язано зі спровокованим виходом лейкоцитів у ділянку запалення, незважаючи на те, що був наочно відмічена моноцитарно-макрофагальна реакція з гіперплазією кісткового мозку.

Таблиця 3.3

ЗКК та мієлограма щурів ($\times 10^6$ /стегно) у динаміці вторинно хронічного запалення, ($M \pm m$, $n=6$)

Терміни дослідження	Мієлокаріоцити	Мега-каріоцити	Бластні клітини	Зрілі нейтрофіли	Незрілі нейтрофіли	Еозинофіли	Лімфоцити	Моноцити	Еритроцитарний паросток
Контроль	102,83 \pm 19,34	0,054 \pm 0,004	1,56 \pm 0,51	18,64 \pm 3,80	5,58 \pm 1,61	4,76 \pm 1,19	50,4 \pm 11,71	3,5 \pm 0,93	16,73 \pm 3,17
6 годин	61,50 \pm 15,47* [^]	0,039 \pm 0,006	0,56 \pm 0,10	15,48 \pm 2,70	4,93 \pm 0,68	1,35 \pm 0,26*	30,53 \pm 6,29	1,25 \pm 0,13*	7,69 \pm 1,50*
1-а доба	253,67 \pm 42,74* ^{^^} ^	0,036 \pm 0,003	1,54 \pm 0,77	67,73 \pm 14,68* ^{^^}	17,42 \pm 3,76* ^{^^}	1,24 \pm 0,61*	110,79 \pm 17,57* ^{^^^}	4,2 \pm 1,6 [^]	41,6 \pm 5,91* ^{^^^}
2-а доба	81,50 \pm 23,01 ^{^^}	0,035 \pm 0,013	1,91 \pm 0,61	13,69 \pm 3,25 ^{^^}	9,88 \pm 2,91	2,37 \pm 0,69	33,15 \pm 9,15 ^{^^}	4,90 \pm 2,30	16,10 \pm 4,7 [^]
3-я доба	86,83 \pm 15,29	0,045 \pm 0,004	0,65 \pm 0,26	21,38 \pm 5,69	6,78 \pm 1,46	2,03 \pm 0,52	36,47 \pm 6,43	2,09 \pm 0,5	9,93 \pm 1,23
5-а доба	93,33 \pm 8,82	0,04 \pm 0,009	0,68 \pm 0,09	27,95 \pm 2,82	8,26 \pm 1,06	1,79 \pm 0,22*	40,51 \pm 3,70	4,72 \pm 0,40 [^] ^	9,53 \pm 1,3
7-а доба	45,83 \pm 5,83* ^{^^^}	0,02 \pm 0,002* [^]	0,39 \pm 0,05* ^{^^}	12,42 \pm 1,61 ^{^^^}	3,43 \pm 0,71 ^{^^}	0,23 \pm 0,03* ^{^^^}	22,13 \pm 2,74 ^{^^}	0,60 \pm 0,11* ^{^^^}	6,9 \pm 1,11*
10-а доба	98,3 \pm 16,52 ^{^^}	0,025 \pm 0,010	0,93 \pm 0,26 ^{^^}	23,74 \pm 2,00 ^{^^^}	8,38 \pm 2,02 [^]	2,45 \pm 0,90 [^]	47,33 \pm 7,55 ^{^^}	2,03 \pm 0,40 ^{^^}	13,5 \pm 1,5
14-а доба	148,3 \pm 30,05	0,066 \pm 0,006* [^]	0,85 \pm 0,15	19,32 \pm 3,88	8,96 \pm 1,78	2,50 \pm 0,77	81,1 \pm 16,90	2,56 \pm 0,41	33,9 \pm 4,60* [^]
21-а доба	402,8 \pm 28,00* ^{^^^}	0,072 \pm 0,009* [^]	2,95 \pm 0,53 ^{^^}	74,09 \pm 6,42* ^{^^^}	26,27 \pm 2,73* ^{^^^}	7,55 \pm 0,94 ^{^^^}	220,40 \pm 19,02* ^{^^^}	6,27 \pm 0,61* ^{^^^}	64,09 \pm 6,0* ^{^^^}
28-а доба	292,6 \pm 65,10*	0,059 \pm 0,006	1,99 \pm 0,73	58,26 \pm 13,80*	26,82 \pm 6,52**	5,53 \pm 1,48	156,30 \pm 37,3*	14,42 \pm 3,41* ^{^^}	28,01 \pm 3,4 ^{^^^}

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) порівняно з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем; ^ - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) у порівнянні з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном.

Кількість мегакаріоцитів при природному перебігу запалення достовірно знижена на 7-му добу в порівнянні з контролем в 2,7 рази, $p < 0,05$, а в інші терміни дослідження статистично не відрізняється від такого в контролі.

Спостерігається також тенденція підвищення кількості мегакаріоцитів на 14-ту і 21-шу добу.

Кількість бластних клітин (БК) при природному перебігу запалення достовірно знижено на 7-му добу в порівнянні з контролем в 4 рази, $p < 0,01$, а в інші терміни дослідження статистично не відрізняється від такого в контролі.

Спостерігається також тенденція підвищення кількості БК на 21-шу і 28-му доби.

Кількість нейтрофілів при природному перебігу запалення достовірно підвищено на 1-шу, 21-шу і 28-му доби (відповідно в 3,12 рази, $p < 0,05$; в 4,7 рази, $p < 0,01$ і в 4,8 рази, $p < 0,01$)

Відсутність достовірності збільшення на 10-ту – 14-ту доби, ймовірно, пов'язано з активним виходом нейтрофілів у периферичну кров з депо.

Вміст еозинофілів у кістковому мозку при природному перебігу запалення також має хвилеподібну тенденцію змін: відмічено значне пониження кількості еозинофілів на 1-шу, 5-ту і 7-му доби (відповідно в 3,83 рази, $p < 0,05$; в 2,66 рази, $p < 0,05$ і в 20,7 разів, $p < 0,001$) і подальше на 14-ту – 28-му доби відновлення їх кількості.

Уваги заслуговує процес виходу еозинофілів з депо в периферію, який переважає над їх продукцією, особливо на 1-шу, 5-ту і 7-му доби. Посилений вихід еозинофілів в кров в ці терміни запалення відображає їх міграцію в осередок в гострий період запалення, а на 14-ту і 28-му доби – хронізації запалення, ймовірно, у зв'язку з тим, що еозинофіли виявляються в великій кількості в крові і у вогнищі гранулематозного запалення [163].

Кількість лімфоцитів в кістковому мозку при природному перебігу запалення достовірно більше на 21-шу і 28-му добу (відповідно в 1,79 рази, $p < 0,05$ і в 4,12 рази, $p < 0,001$), ніж в контролі.

Також, спостерігається на 6-ту годину та на 7-му добу достовірне зниження кількості моноцитів. Зміна вмісту моноцитів, ймовірно, відображає загальні закономірності реагування гемопоезу при запаленні у щурів, так як для них характерна лімфоїдна формула крові. Істотне підвищення кількості моноцитів в кістковому мозку на 2-гу та 5-ту добу запалення обумовлено не тільки активацією лімфопоезу, але і хомінгом периферичних лімфоцитів в кістковий мозок для активації гемопоезу. Збільшення вмісту моноцитів на 5-ту, 21-шу і 28-му доби відображають повторну активацію лімфопоезу в зв'язку з повторною лімфоцитарною інфільтрацією вогнища запалення, характерного для ХЗ.

Кількість лімфоцитів в кістковому мозку при природному перебігу запалення достовірно знижувалося на 7-му добу (в 2,27 рази, $p < 0,05$) і підвищувався на 1-шу, 21-шу і 28-му доби (відповідно в 2,2 рази, $p < 0,05$, в 4,37 рази, $p < 0,01$ і 3,1 рази, $p < 0,05$), що характерно для ХЗ.

Зменшення вмісту лімфоцитів на 7-му добу пов'язано з посиленням їх виходом з кісткового мозку в периферичну кров і в подальшому в осередок запалення.

Вміст еритроїдних клітин в кістковому мозку при природному перебігу запалення достовірно збільшується на 1-шу, 14-ту і 21-шу доби (відповідно в 2,49 рази, $p < 0,05$, в 2,03 рази, $p < 0,05$ і в 3,83 рази, $p < 0,01$), зменшується щодо контролю на 1-шу та 7-му доби (в 2,17 рази, $p < 0,05$ та в 2,42 рази, $p < 0,05$).

3.1.5. Лейкоцитарна реакція периферичної крові. Лейкоцитарно-моноцитарне співвідношення у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.

При природному перебігу запалення ЗКЛ в крові в динаміці

природнього перебігу запалення змінюється хвилеподібно: перша хвиля супроводжується значним збільшенням на 1-шу – 2-гу доби; ще одна хвиля - значне збільшення на 5-ту добу; третя хвиля – значне зростання на 28-му добу (таблиця 3.4).

З початком розвитку гострого запалення лейкоцити активно виходять у вогнище за рахунок тих, що циркулюють у периферичній крові. На 1-шу добу інтенсивність міграції достовірно знижується порівняно з початковими термінами запалення і контролем. З кісткового мозку надходить більше лейкоцитів, що відбувається внаслідок активації кровотворення. На 2-гу добу встановлюється баланс між міграцією лейкоцитів і надходженням їх із кісткового мозку. Другий пік лейкоцитозу спостерігається на 5-ту добу. Він, ймовірно, пов'язаний зі зниженням міграції в вогнище запалення та зі зростанням гемопоезу у зв'язку з розвитком у цей час гіперплазії кісткового мозку. Рівномірність між міграцією лейкоцитів та продукцією їх в кістковому мозку встановлюється і на 7-му – 21-шу добу. Спостерігається тенденція до підвищення кількості лейкоцитів на 28-му добу.

Таким чином, до 1-ої доби запалення поступово розвивається лейкоцитоз, а в подальшому ЗКЛ змінюється хвилеподібно. До 1-ої доби спостерігається виражений лейкоцитоз, що відповідає піку лейкоцитів. На 5-ту та на 28-му доби також спостерігається достовірне ЗКЛ.

Лейкоцитоз на 1-шу добу пов'язаний з активацією гемопоезу. Достовірне підвищення на 5-ту і 28-му доби збігається з періодом повторного посилення гемопоезу у зв'язку з розвитком гіперплазії кісткового мозку [164]. При природному перебігу запалення на 6-ти годинах виявляється нейтрофільний лейкоцитоз. Незважаючи на інтенсивну міграцію нейтрофілів у вогнище ураження, в цей період розвивається нейтрофілія, що свідчить про переважання нейтрофілів з кісткового мозку в кров над їх міграцією з крові у вогнище. Це, мабуть, пов'язано з підвищеним вимиванням зрілих лейкоцитів з кісткового мозку, прискоренням кровотоку, в тому числі в кістковому мозку, характерним для запалення, яке, в свою чергу, як і всі системні прояви

Таблиця 3.4

**Лейкоцити периферичної крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$) у динаміці природнього вторинно хронічного запалення,
($M \pm m$, $n=6$)**

	ЗКЛ	Еозинофіли	Нейтрофіли Паличкоядерні	Нейтрофіли Сегментоядерні	Моноцити	Лімфоцити
Контроль	12,94 \pm 1,6662	0,258 \pm 0,0336	0,282 \pm 0,0987	2,094 \pm 0,4562	0,18 \pm 0,0189	10,122 \pm 1,2501
6 годин	10,75 \pm 0,901 [^]	0,1067 \pm 0,0251 ^{^^**}	0,34 \pm 0,0552	4,6467 \pm 0,5948 ^{**}	0,3783 \pm 0,1021	5,275 \pm 0,494 ^{^^**}
1-а доба	8,7833 \pm 0,6775 [*]	0,1683 \pm 0,0343	0,4283 \pm 0,0443	3,68 \pm 0,4305 [*]	0,1817 \pm 0,0411	4,3283 \pm 0,428 ^{**}
2-а доба	11,0167 \pm 0,7064	0,4983 \pm 0,1254	0,3117 \pm 0,1152	3,5333 \pm 0,4273 [*]	0,325 \pm 0,0676	6,355 \pm 0,46 [*]
3-я доба	12,9 \pm 1,4955	0,4483 \pm 0,1659	0,315 \pm 0,1102	3,2133 \pm 0,3219	0,5233 \pm 0,1942	8,4033 \pm 1,2305
5-а доба	14,8167 \pm 1,2338	0,3283 \pm 0,048	0,3383 \pm 0,0658	2,6717 \pm 0,4318	0,5683 \pm 0,2305	10,8733 \pm 0,8879
7-а доба	10,5 \pm 1,1088 [^]	0,3737 \pm 0,1197	0,2287 \pm 0,0826	3,712 \pm 0,4417 [*]	0,2655 \pm 0,0792	5,7387 \pm 0,6969 ^{^^^*}
10-а доба	13,3667 \pm 1,5398	0,6233 \pm 0,2289	0,815 \pm 0,1903 [^]	2,455 \pm 0,2927 [^]	0,3383 \pm 0,1755	9,955 \pm 1,3478 [^]
14-а доба	10,9333 \pm 0,8909	0,404 \pm 0,0855	0,3683 \pm 0,0649 ^{^*}	2,7233 \pm 0,5342	0,4067 \pm 0,0652 ^{**}	7,1017 \pm 0,8758
21-а доба	12,5833 \pm 1,0772	0,4298 \pm 0,0888	0,4865 \pm 0,1172	2,1192 \pm 0,3011	0,2033 \pm 0,0349 [^]	9,3445 \pm 0,7194
28-а доба	15,3667 \pm 1,4764	0,5687 \pm 0,171	0,369 \pm 0,0864	4,0813 \pm 0,8945	0,6448 \pm 0,2963	9,7028 \pm 0,6681

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) в порівнянні з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) в порівнянні з контролем; ^ - ймовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) в порівнянні з попереднім терміном; ^^ - ймовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) в порівнянні з попереднім терміном; ^^ - ймовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) в порівнянні з попереднім терміном;

запалення, що викликаються прозапальними цитокінами, які інтенсивно продукованими активованими лейкоцитами вогнища і периферичної крові [165,166].

При природному перебігу запалення на 6-ту годину виявляється нейтрофільний лейкоцитоз. Незважаючи на інтенсивну міграцію нейтрофілів у вогнище запалення, в цей період розвивається нейтрофілія, що свідчить про переважання нейтрофілів з кісткового мозку в кров над їх міграцією з крові у вогнище. Це, мабуть, пов'язано з підвищеним вимиванням зрілих лейкоцитів з кісткового мозку, прискоренням кровотоку, в тому числі в кістковому мозку, характерним для запалення, яке, в свою чергу, як і всі системні прояви запалення, що викликаються прозапальними цитокінами, які інтенсивно продукуються активованими лейкоцитами вогнища і периферичної крові [165,166].

На 2-гу добу нейтрофілія досягає максимуму, відповідно періоду вираженої активації гемопоезу і значного збільшення ЗКЛ.

Як видно, виражена нейтрофілія зберігається до 5-ої доби, що, ймовірно, пов'язано з гіперплазією кісткового мозку [167].

На 28-шу добу спостерігається виражена нейтропенія, що свідчить про багаторазове посилення міграції нейтрофілів у вогнище, що відповідає хронічного перебігу запалення.

При природному перебігу запалення кількість паличкоядерних нейтрофілів в периферичної крові коливається хвилеподібно. Спостерігається тенденція до їх збільшення на 1-шу добу, а найбільш значне підвищення – на 2-гу добу, що збігається з розвитком лейкоцитозу за рахунок активації кровотворення.

На 10-ту добу спостерігається значне збільшення кількості паличковидних нейтрофілів, яке зберігається з аналогічною зміною ЗКЛ і, мабуть, пов'язано з розвитком гіперплазії кісткового мозку. На 7-му – 21-шу добу спостерігається тенденція до збільшення кількості паличкових нейтрофілів у порівнянні з вихідним рівнем, що також відповідає коливанням

ЗКЛ, що свідчить, з одного боку, про активацію лейкопоезу, а з іншого – про посилення виходу лейкоцитів у вогнище, тобто про хронізацію запалення, яке триває до 28-ої доби, коли спостерігається тенденція до зниження кількості паличкоядерних нейтрофілів порівняно з попереднім терміном.

При природному перебігу запалення спостерігається тенденція до зниження вмісту еозинофілів на 6-ту годину і на 1-шу добу. Значне збільшення спостерігається на 10-ту і 28-му добу порівняно з контролем, а в решту часу спостерігається тенденція до збільшення їх кількості. Вони аналогічні змінам ЗКЛ і відображають переважання міграції клітин над їх надходженням з кісткового мозку в периферичну кров спочатку за рахунок гострого періоду запалення, а потім - при хронізації процесу.

При природному перебігу запалення кількість моноцитів крові значно збільшується в порівнянні з контролем протягом 6-ої години, 2-ої, 3-ої, 5-ої, 7-ої, 10-ої доби. Спостерігається тенденція до збільшення їх кількості на 14-ту і 28-му доби і тенденція до зменшення кількості моноцитів на 21-шу добу у порівнянні з контролем.

Підвищення вмісту моноцитів пов'язано з посиленням лейкопоезу, а також з піком моноцитарної інфільтрації вогнища в гострому періоді запалення. Наступна зміна кількості моноцитів в крові відображає хронізацію запалення - міграцію моноцитів і активацію лейкопоезу [168-172].

При природному перебігу запалення з числа лімфоцитів в крові відбувається значне зниження в порівнянні з контролем на 6-ту годину, а також на 1-шу, 2-гу і 7-му доби.

Відомо, що зміна кількості лімфоцитів в периферичній крові на ранніх стадіях запалення пов'язане з їх хомінгом - міграцією в кістковий мозок і лімфоїдні органи, щоб ініціювати посилення кровотворення і імунну відповідь, коливання кількості лімфоцитів в пізні терміни вказує на повторну міграцію та активацію лімфопоезу через ХЗ.

ЛМС є важливим прогностичним маркером дисфункції ендотелію та запалення [173]. Низький показник ЛМС корелює з погіршенням одужання і,

ймовірно, є прогностичним критерієм розвитку захворювань, пов'язаних із хронічним запаленням [174 – 176]. Чим вищий показник ЛМС, тим кращий прогноз виживання та одужання для багатьох захворювань – раку, інсульту тощо [177, 178]. У результаті ми виявили негативну динаміку зі збільшенням терміну дослідження при природньому перебігу запалення. На 21-шу добу показник ЛМС був значно нижчим у групі тварин при природньому перебігу запалення, що свідчить про несприятливий прогноз щодо видужування та ймовірно може розглядатися як ізольований маркер ХЗ (рис. 3.12).

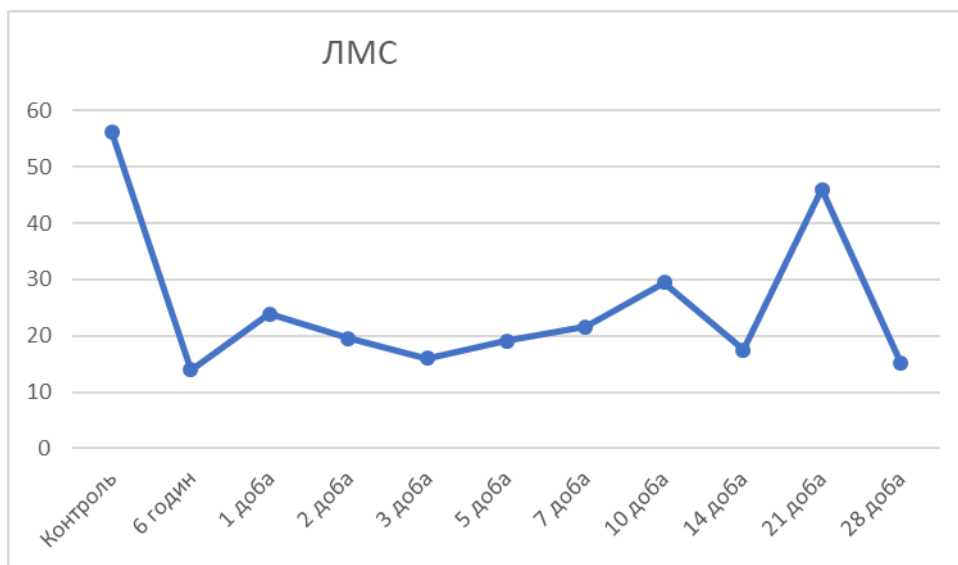


Рис. 3.12 Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення у динаміці природнього вторинно хронічного запалення

3.1.6. Продукція інтерлейкіну-6 та туморнекротичного фактору-альфа (рівні їх у крові) у динаміці природнього вторинно хронічного запалення

Починаючи з 2-ої доби, концентрація TNF- α протягом природнього перебігу запалення зростає, значно перевищуючи контроль на 2-гу, 3-тю та 5-ту доби, що відповідає хвилі збільшення рівня TNF- α (табл. 3.5). Пікова концентрація TNF- α спостерігається на 3-тю добу, коли вона перевищує контроль в 2,3 рази ($p < 0,001$).

На 2-гу та 5-ту доби концентрація TNF- α суттєво перевищувала

контроль, відповідно, в 2,1 рази ($p < 0,01$) та в 1,72 рази ($p < 0,05$).

Таблиця 3.5

Концентрація TNF- α і IL 6 у крові щурів (пг / мл) за природнього перебігу хронічного запалення ($M \pm m$, $n=6$)

термін дослідження	TNF- α	IL 6
Контроль	4,3375 \pm 0,0508	7,695 \pm 0,1087
6 годин	5,89 \pm 0,049	8,2933 \pm 0,0539
1-а доба	6,9267 \pm 0,0686	10,3533 \pm 0,1756 ^{*^^}
2-а доба	9,1467 \pm 0,0531 ^{**^}	10,0833 \pm 0,0759 [*]
3-я доба	9,86 \pm 0,0776 ^{***}	11,42 \pm 0,0521 ^{**^}
5-а доба	7,4533 \pm 0,145 [*]	8,5333 \pm 0,047 ^{*^}
7-а доба	6,0725 \pm 0,0417 ^{*^}	7,7625 \pm 0,0793
10-а доба	5,2475 \pm 0,0287	7,0325 \pm 0,0793
14-а доба	4,02 \pm 0,0345	7,04 \pm 0,0431
21-а доба	3,8925 \pm 0,0389	7,1175 \pm 0,0131
28-а доба	4,3075 \pm 0,0389	7,4975 \pm 0,0345

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) порівняно з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) порівняно з контролем; ^ - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном.

На 7-му добу концентрація TNF- α знизилася порівняно з 5-ою добою. Також на 7-му добу рівень TNF- α перевищив контроль у 1,47 рази ($p < 0,05$).

Починаючи з 7-ої доби концентрація TNF- α поступово знижувались і на 14-ту – 28-му доби майже не відрізнялась від контролю.

Таким чином, фазовий характер змін концентрацій TNF- α при нормальному перебігу свідчить про ХЗ.

Згідно з численними науковими дослідженнями, рівень TNF- α у сироватці крові підвищений як при гострому, так і при хронічному запаленні, що ми побачили в нашому експерименті.

Концентрація ІЛ-6 у крові при природному перебігу запалення протягом усього експерименту змінювалася поступово і протягом більшості термінів перевищувала контроль (табл. 3.5).

З 6-ої години спостерігається поступове збільшення концентрації ІЛ-6, що перевищує контроль в 1,07 рази.

На 1-шу – 3-тю доби концентрація ІЛ-6 суттєво перевищувала контроль у 1,34 рази ($p < 0,05$), 1,3 рази ($p < 0,05$) та у 1,45 рази ($p < 0,01$). Також на 1-шу добу спостерігається значне збільшення концентрації ІЛ-6 порівняно з попереднім періодом у 1,25 рази ($p < 0,01$).

На 3-тю добу спостерігається пік концентрації ІЛ-6, що перевищує показник 2-ої доби в 1,13 рази ($p < 0,05$), а також суттєво вище, ніж у контролі, у 1,49 рази ($p < 0,01$).

З 5-ої доби ми спостерігаємо поступове зниження концентрації ІЛ-6 у крові порівняно з 3-ю добою у 1,34 разу ($p < 0,05$), але все ще дещо перевищуючи контроль. Починаючи з 7-ої доби концентрація ІЛ-6 поступово знижувалась і на 14-ту – 28-му доби майже не відрізнялась від контролю.

3.1.7. Продукція С-реактивного білку (рівень його в крові) у динаміці природнього вторинно хронічного запалення.

Концентрація СРБ в крові при природному перебігу запалення змінювалась хвилеподібно (табл. 3.6). Концентрація його підвищилась на 6-ту годину і не суттєво перевищувала контроль. Також, на 1-шу добу спостерігається подальше зростання концентрації СРБ в порівнянні з попереднім періодом, і було достовірно більше значення в порівнянні з контролем, відповідно в 1,7 раз ($p < 0,01$). Отже, 1-ша доба відповідає найбільшій концентрації СРБ.

На 3-тю добу спостерігалось поступове збільшення концентрації СРБ, що перевищує 2-гу добу в 1,25 рази ($p < 0,05$), і достовірно вище, ніж у контролі в 1,6 рази ($p < 0,01$).

З 5-ої доби спостерігається поступове зниження концентрації СРБ в крові в порівнянні з 3-ою добою в 1,92 рази ($p < 0,01$), а також нижче, ніж контроль. Протягом подальших термінів рівні СРБ майже не відрізнялися, чи були нижчі за контроль.

Таблиця 3.6

Концентрація СРБ у крові щурів (пг / мл) за природнього перебігу хронічного запалення ($M \pm m$, $n=6$)

термін дослідження	СРБ
Контроль	2,0025±0,0459
6 годин	2,0367±0,0259
1-а доба	3,3733±0,0352**^^
2-а доба	2,55±0,0268***^^
3-я доба	3,19±0,0082**^^
5-а доба	1,66±0,0255
7-а доба	2,19±0,0806
10-а доба	1,9925±0,0417
14-а доба	1,7725±0,0662
21-а доба	1,515±0,1353
28-а доба	1,795±0,0428

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) порівняно з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) порівняно з контролем; ^ - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном.

3.2. Реакції системи крові при вторинному хронічному карагієновому запаленні на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин

3.2.1. Клітинно-тканинна динаміка вогнища запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

Гістологічне дослідження смугастої м'язової тканини стегна щурів контрольної групи на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення виявило майже рівномірно забарвлені еозином м'язові волокна, які мають ядра витягнутої форми, забарвлені гематоксиліном. Між ними розташована пухка сполучна тканина, яка є фуксинофільною при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном

У м'язовій тканині при моделюванні запалення на тлі введення МСК на 6-ту годину експерименту в смугастій мускулатурі при забарвленні гематоксиліном і еозином має місце її інтерстиційний набряк, дистрофічні зміни. В зоні запалення присутні еритроцити, сегментоядерні гранулоцити (головним чином нейтрофільні та базофільні) (рис. 3.13). Інфільтрація починає поширюватися між м'язовими волокнами, розсуває їх. У судинах спостерігається крайове стояння гранулоцитів, повнокров'я. При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном у відповідних зонах розташування пухкої волокнистої і неоформленої сполучної тканини виявляються фуксинофільні колагенові волокна.

На 1-шу добу експерименту у випадку моделювання запалення з застосуванням стволкових клітин у смугастій м'язовій тканині спостерігається осередок абсцедування, в інфільтраті значно домінують гранулоцити (базофіли та нейтрофіли), також присутні еритроцити (рис. 3.14).

При забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном колагенові волокна виявляються у відповідних зонах розташування пухкої волокнистої і неоформленої сполучної тканини, у сполучній тканині з запальним інфільтратом серед м'язових волокон вони стоншені і вкорочені, місцями

відсутні.

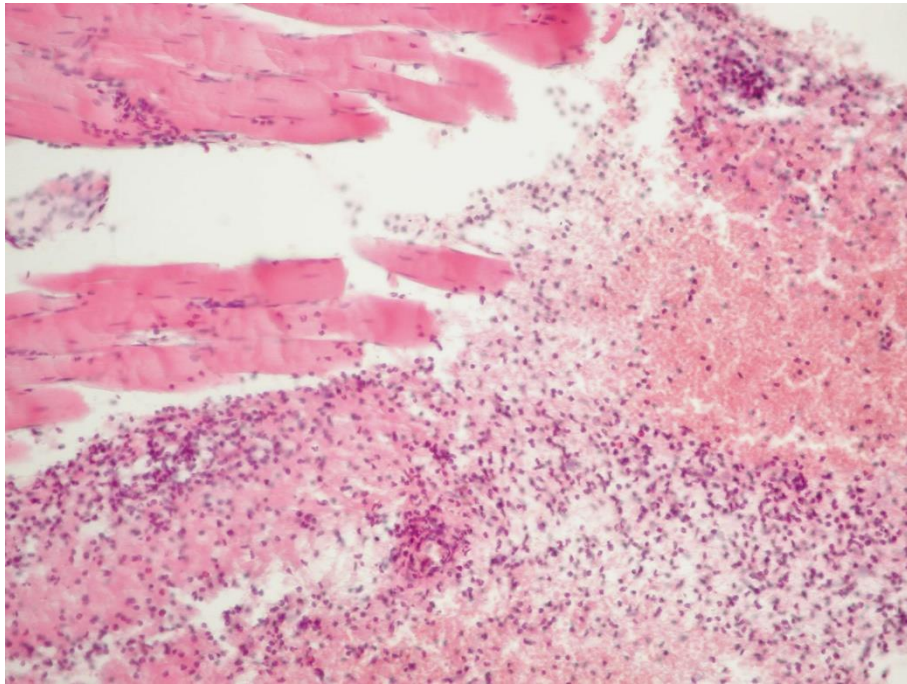


Рис. 3.13 М'язова тканина з ознаками інтерстиційного набряку, дистрофії, у зоні запалення присутні в значній кількості еритроцити, гранулоцити на 6-ту годину. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

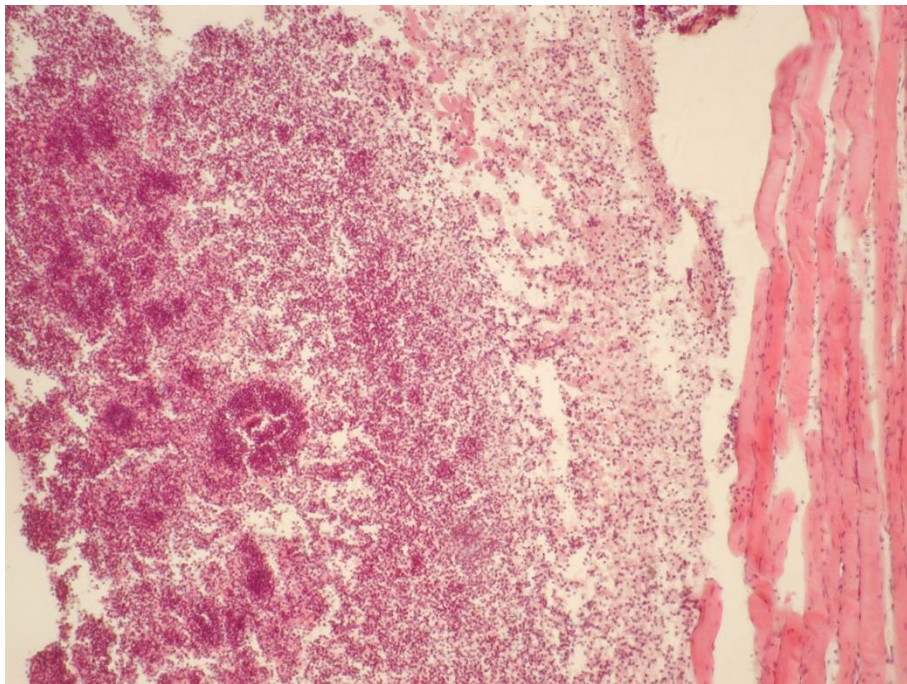


Рис. 3.14 У смугастій м'язовій тканині спостерігається запальний інфільтрат, представлений переважно гранулоцитами, з наявністю осередку абсцедування на 1-шу добу. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

На 2-гу добу запалення із застосуванням МСК у центральній зоні присутній осередок абсцедування, проте клітинна щільність його нижче за попередній строк. У периферійних ділянках тканинних змін виявляються новоутворені тонкостінні кровоносні судини в незначній кількості, в ексудаті все ще присутні гранулоцити, а також спостерігаються лімфоцити, плазмоцити, моноцити, макрофаги, а також небагаточисленні елементи фібробластичного ряду. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном свідчить про хаотичну присутність різної товщини сполучнотканинних волокон з ознаками набряку, місцями – вони відсутні.

На 3-тю добу експерименту із застосуванням МСК характеризується в 2 із 6 випадків початком процесів резорбції гнійного ексудату, появою лімфоцитів, моноцитів, плазмоцитів та макрофагів серед порівняно меншої кількості гранулоцитів (рис. 3.15). В центральній зоні запалення на 3-тю добу зберігається присутність гранулоцитів, а також наявні макрофаги. У 4 випадках у центрі запалення все ще має місце осередок абсцедування. При цьому периферійні ділянки інфільтрату у всіх випадках характеризуються наявністю хаотично розташованих поодиноких набряклих сполучнотканинних волокон (даний факт підтверджується при забарвленні пікрофуксином за ван Гізоном), місцями появою поодиноких тонкостінних кровоносних судин, великою кількістю макрофагів, моноцитів, лімфоцитів, плазмоцитів, а також елементів фібробластичного ряду (рис. 3.16). Серед запального інфільтрату переважно на периферії виявляються поодинокі хаотично розташовані сполучнотканинні волокна. Периферійні ділянки представлені значною кількістю макрофагів, плазмоцитів, поодинокими клітинами фібробластичного ряду, новоутвореними кровоносними судинами з потовщеними стінками. Заслугове увагу те, що на 3-тю добу експерименту при ХЗ на тлі застосування МСК ще не відбувається формування хаотичної сітки сполучнотканинних волокон.

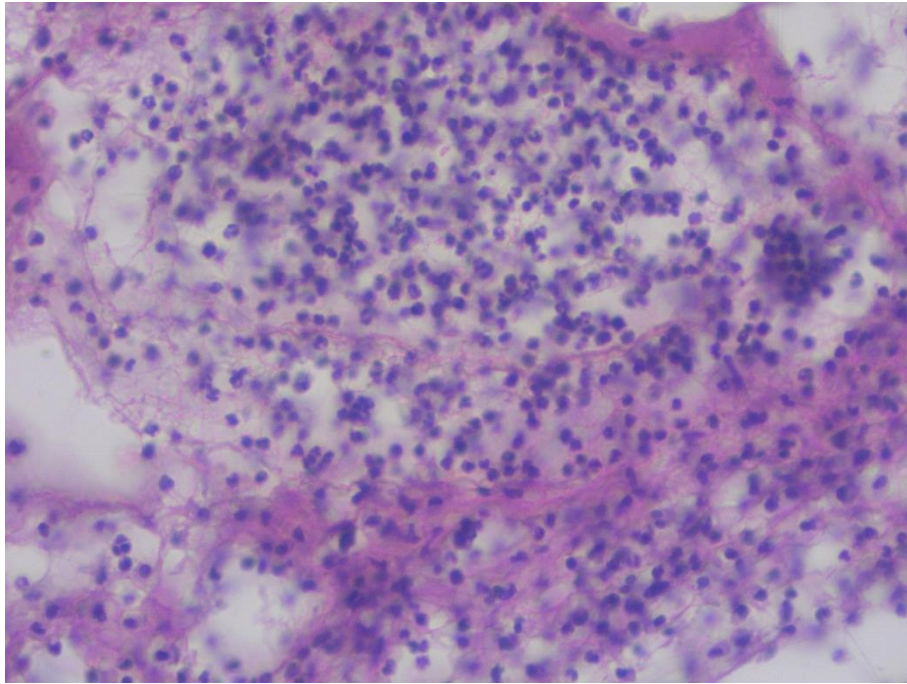


Рис. 3.15 Мікроскопічна картина клітинного складу ексудату центральної зони запалення. Зберігається присутність гранулоцитів, а також наявні макрофаги на 3-тю добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$.

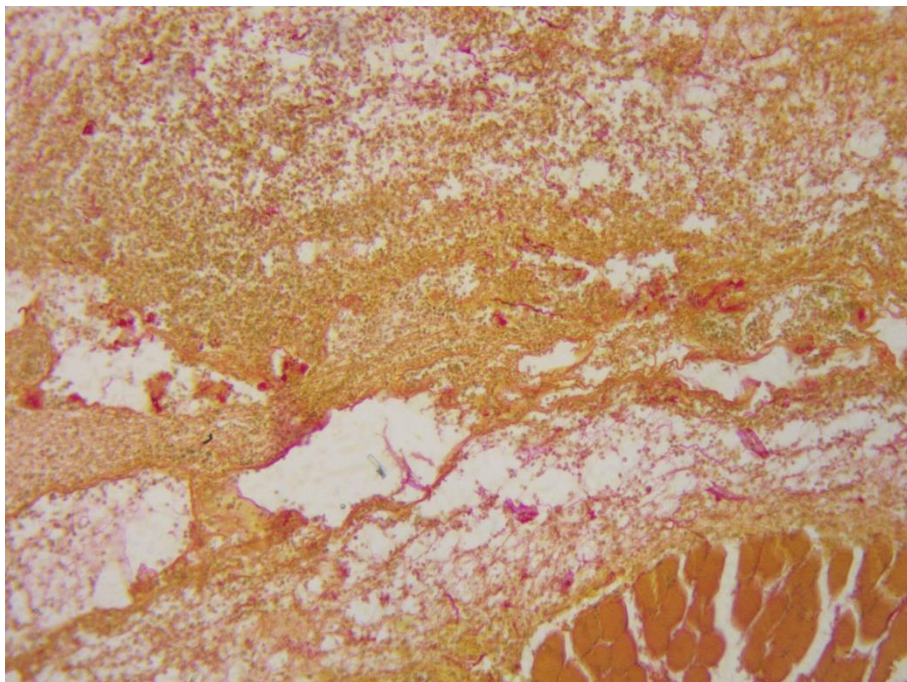


Рис. 3.16 Серед запального інфільтрату переважно на периферії виявляються поодинокі хаотично розташовані сполучнотканинні волокна на 3-тю добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 400$.

Мікроскопічне дослідження на 5-ту добу запалення із застосуванням МСК демонструє в 2 випадках продовження регенераторних змін, в інфільтраті в центрі запалення виявляються геморагії, зниження щільності клітинних елементів, поява серед гранулоцитів моноцитів, макрофагів, лімфоцитів. Периферійні ділянки характеризуються значною кількістю макрофагів, плазмоцитів, поодинокими елементами фібробластичного ряду, новоутвореними кровоносними судинами з товстими стінками (рис. 3.17). У 4 випадках наявні осередки абсцедування з некрозом у центрі, при цьому периферійні зони мають ту ж саму динаміку (рис. 3.18). Колагенові волокна у відповідних місцях їх розташування також різко стоншені і вкорочені, на значних ділянках не спостерігаються зовсім. Відмічається помітна резорбція гнійного ексудату, геморагії, зниження щільності клітинних елементів, новоутворені тонкостінні кровоносні судини на периферії.

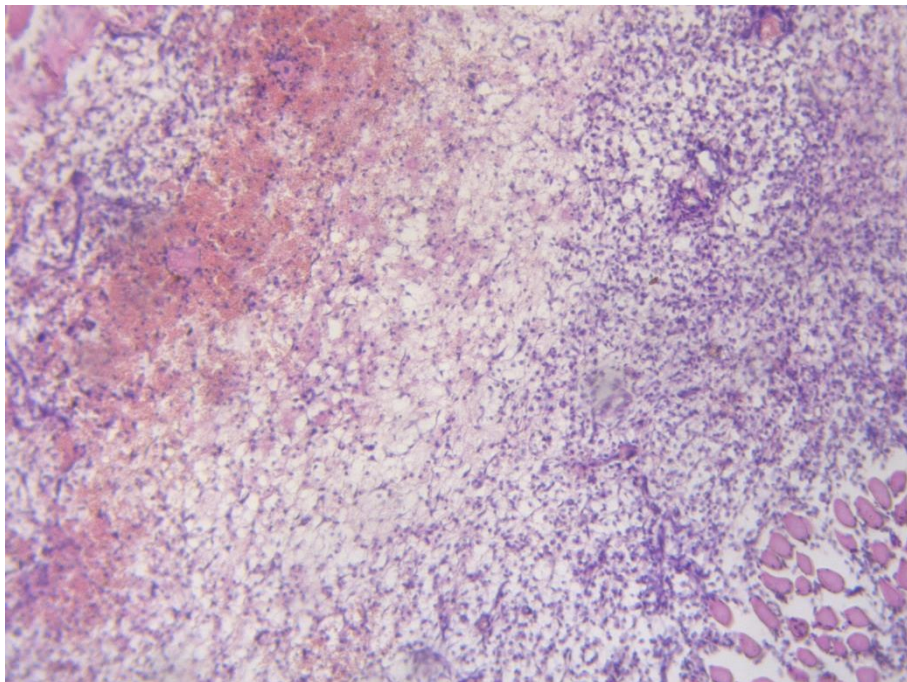


Рис. 3.17 Помітна резорбція гнійного ексудату, геморагії, зниження щільності клітинних елементів, новоутворені тонкостінні кровоносні судини на периферії на 5-ту добу. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$.

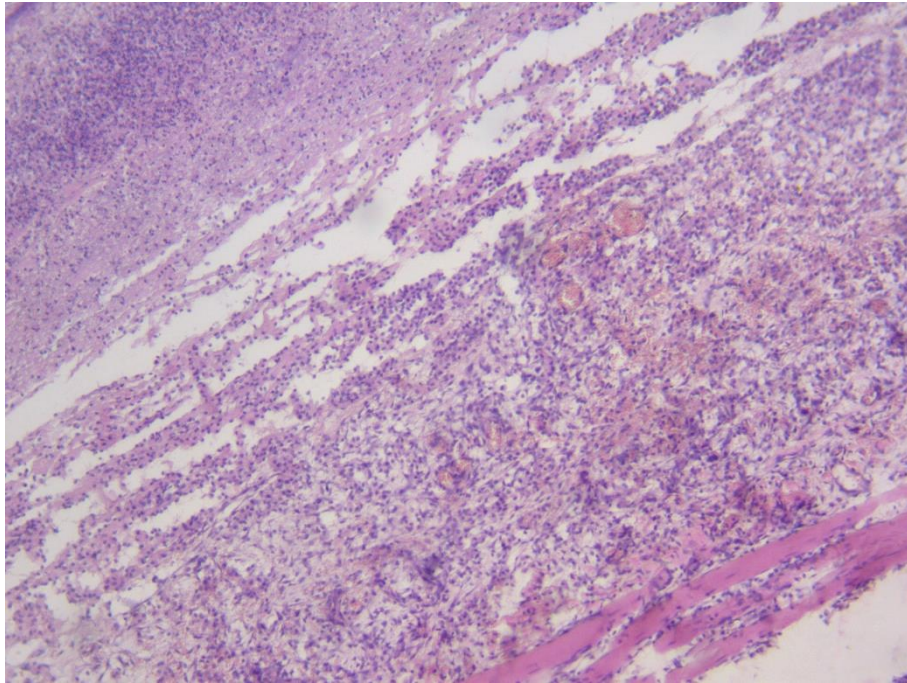


Рис. 3.18 Виявляється наявність гнійного вогнища та помітні регенераторні процеси на периферійних ділянках на 5-ту добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

На 7-му добу експерименту з моделювання запалення з використанням МСК відбувається обмежування некротичного осередку, зниження кількості гранулоцитів в ексудаті, збільшення кількості лімфоїдних елементів, макрофагів. У периферійних відділах інфільтрату спостерігається наявність великої кількості макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, моноцитів та фібробластичних клітин, збільшення новоутворених кровоносних судин, формування хаотичної сітки сполучнотканинних волокон (рис. 3.19, 3.20). На 7-му добу експерименту спостерігається зменшення кількості гранулоцитів, резорбція некротичних мас та поява макрофагів, лімфоїдних елементів. У периферійних ділянках запалення виявляється наявність сітки тонких сполучнотканинних волокон поміж клітинної інфільтрації, молодих новоутворених кровоносних судин.

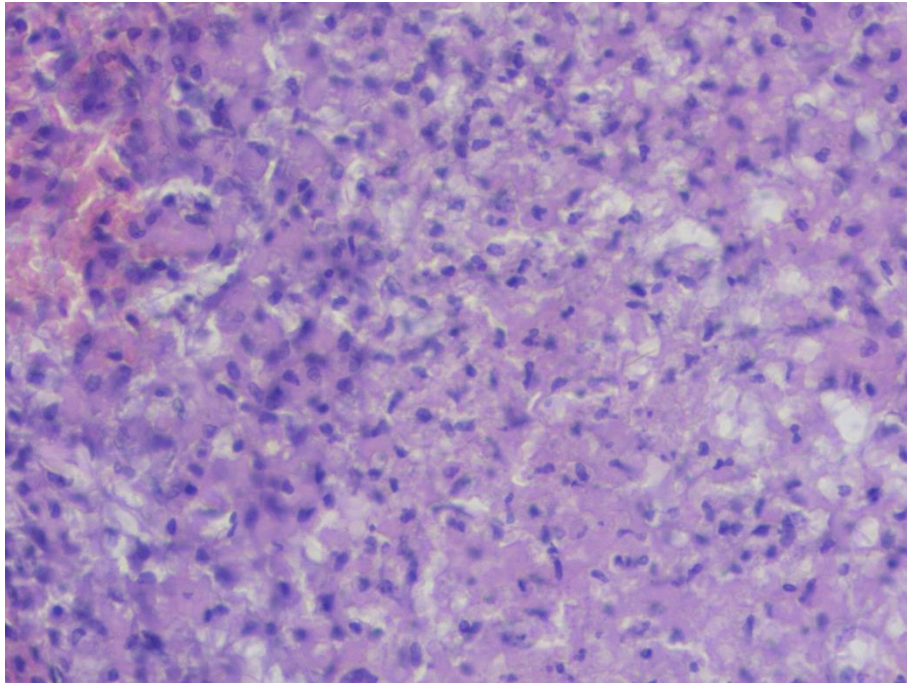


Рис. 3.19 Мікроскопічна картина центральної ділянки запалення, де спостерігається зменшення кількості гранулоцитів, резорбція некротичних мас та поява макрофагів, лімфоїдних елементів на 7-му добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$.

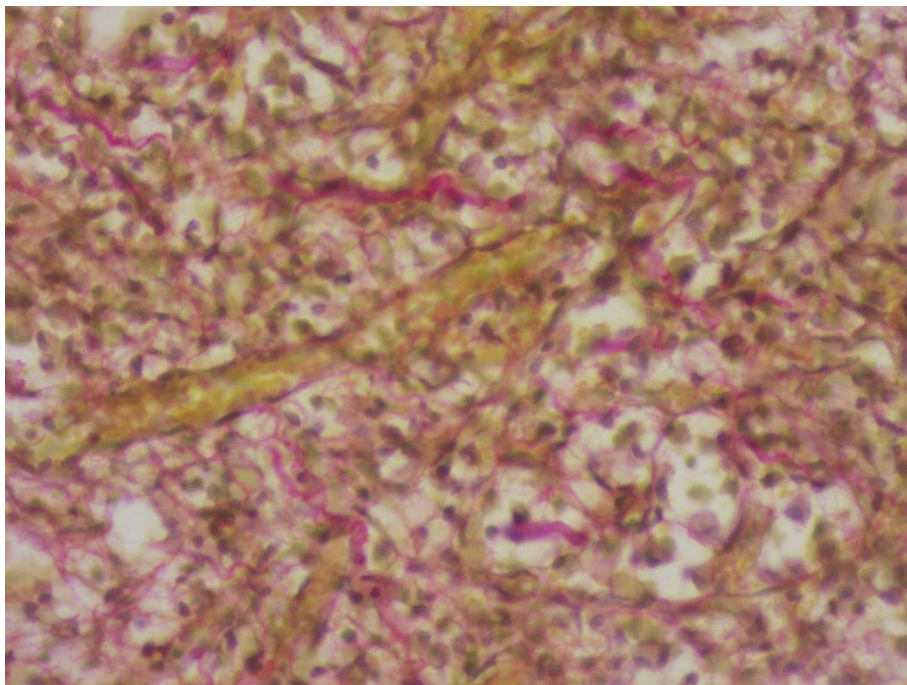


Рис. 3.20 У периферійних ділянках запалення виявляється наявність сітки тонких сполучнотканинних волокон поміж клітинної інфільтрації на 7-му добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 400$.

На 10-ту добу експерименту мікроскопічна картина запалення з використанням МСК демонструє майже суцільну резорбцію некрозу. Гранулоцити в ексудаті практично не виявляються, характерна наявність лімфоїдних клітин, макрофагів, моноцитів, плазмоцитів, нечисельних елементів фібробластичного ряду (рис. 3.21). Периферійні ділянки мають значну кількість сполучнотканинних волокон із кровоносними судинами, серед клітинних елементів присутні лімфоцити, макрофаги, моноцити, плазмоцити, фібробластичні клітини. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном демонструє в окремих ділянках тяжі сполучнотканинних волокон.

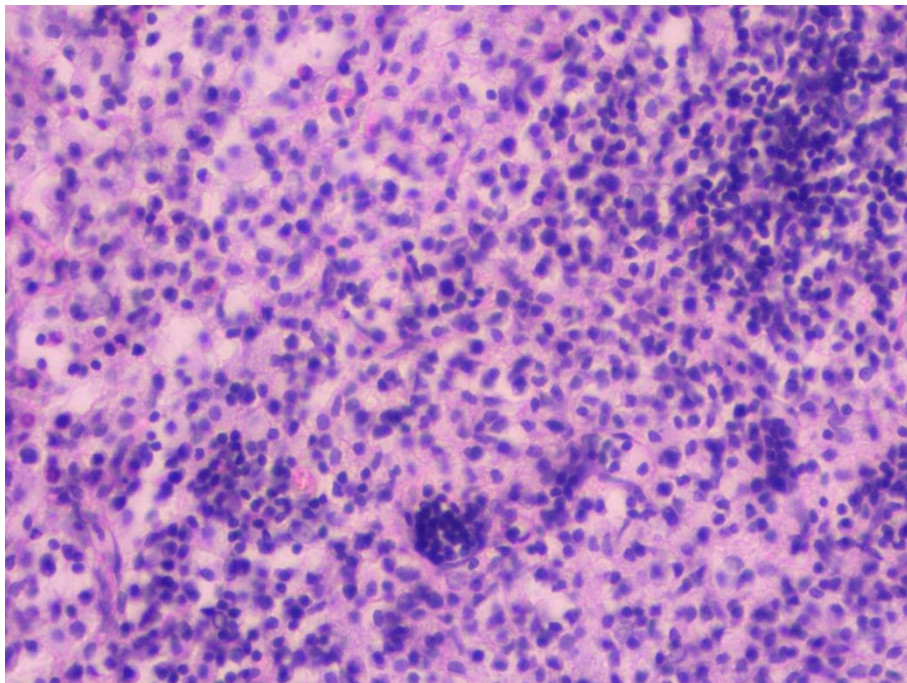


Рис. 3.21 Мікроскопічна картина центральних ділянок запалення з використанням МСК (малочисельні гранулоцити, значна кількість лімфоїдних клітин та макрофаги) на 10-ту добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$.

На 14-ту добу експерименту в домінуючій кількості випадків (5 із 6) має місце суцільна резорбція гнійно-некротичних мас (рис. 3.22). Клітинний склад представлений макрофагами (особливо у периферійних ділянках), лімфоїдними та фібробластичними елементами. Також

спостерігаються сполучнотканинні волокна, що формують щільну сітку в периферійних відділах, молоді кровоносні судини, які спрямовані до центру тканинних змін (рис. 3.23). В одному випадку процес резорбції некротичних мас майже завершений. В мікроскопічній картині центральної ділянки запалення спостерігається відсутність гнійного ексудату, присутні макрофаги, лімфоїдні та фібробластичні клітини. Мікроскопічна картина периферійної ділянки тканинних змін представлена вираженою сіткою сполучнотканинних елементів, клітинними елементами та новоутвореними кровоносними судинами. Наявні сполучнотканинні волокна в оточуючих ділянках, ендо- та перимізії. Клітинний інфільтрат представлений лімфоцитами, макрофагами, моноцитами, плазмоцитами, елементами фібробластичного ряду, місцями поодинокими гігантськими багатоядерними клітинами та гранулоцитами.

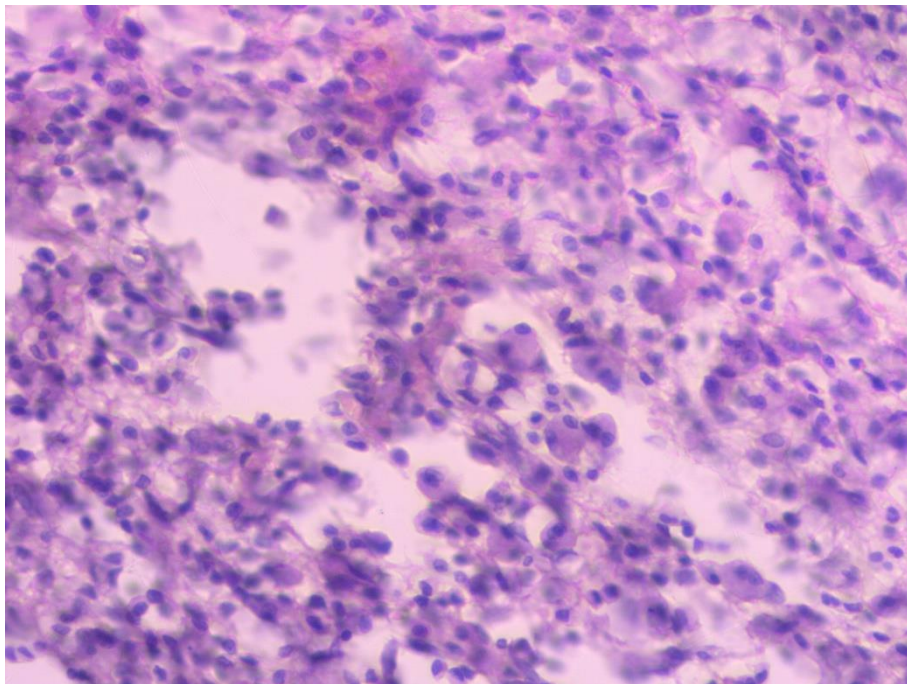


Рис. 3.22 Мікроскопічна картина центральної ділянки запалення, де спостерігається відсутність гнійного ексудату, присутні макрофаги, лімфоїдні та фібробластичні клітини на 14-ту добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

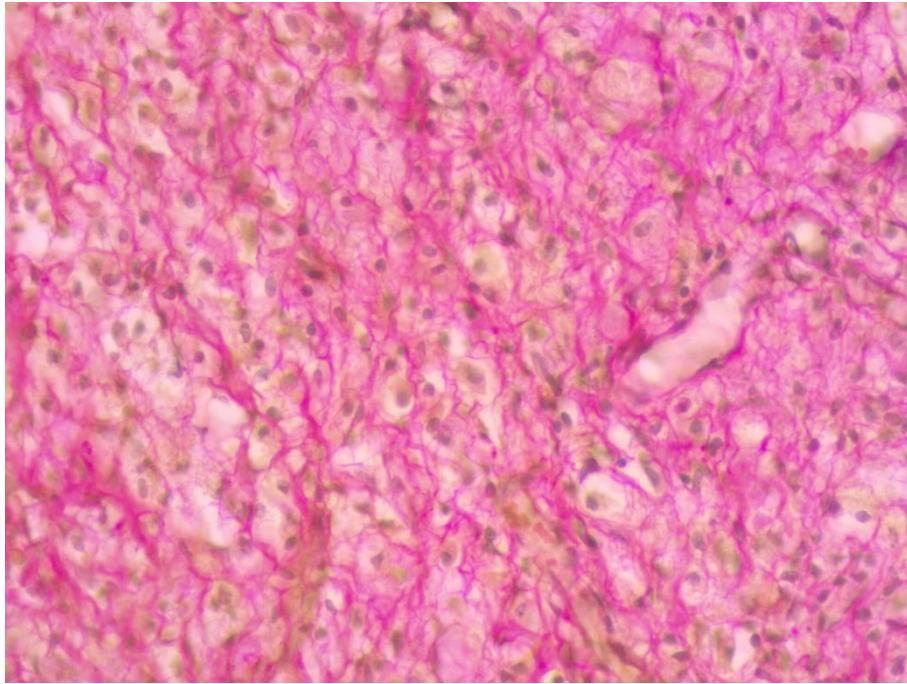


Рис. 3.23 Мікроскопічна картина периферійної ділянки тканинних змін з вираженою сіткою сполучнотканинних елементів, клітинними елементами та новоутвореними кровоносними судинами на 14-ту добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 400$.

На 21-шу доба експерименту з моделювання запалення із застосуванням МСК відзначається відсутністю некрозу. Клітинний інфільтрат представлений лімфоцитами, макрофагами, моноцитами, плазмоцитами, елементами фібробластичного ряду, місцями поодинокими гігантськими багатоядерними клітинами та гранулоцитами. Наявні сполучнотканинні волокна в оточуючих ділянках, ендо- та перимізії. Вони мають більшу площу та товстіші за попередні терміни, особливо в периферійних місцях, спостерігається початок формування їх сітки в центрі тканинних змін (рис. 3.24).

На 28-му добу експерименту має місце наступна мікроскопічна картина: серед лімфоцитів, макрофагів, плазмоцитів, моноцитів, фібробластичних елементів, у клітинному інфільтраті спостерігаються сформовані гігантські багатоядерні клітини та процес їх формування, місцями молоді новоутворені кровоносні судини (рис. 3.25).

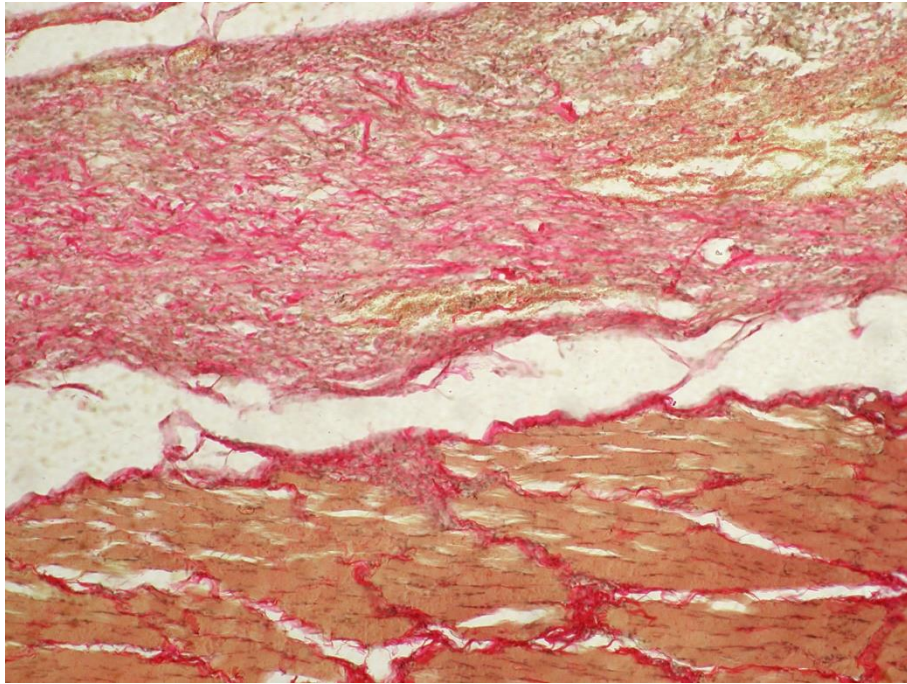


Рис. 3.24 В мікропрепараті спостерігаються поля сполучнотканинних тяжів у периферійних ділянках та формування сітки сполучнотканинних волокон у центральній частині тканинних змін на 21-шу добу. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 100$.

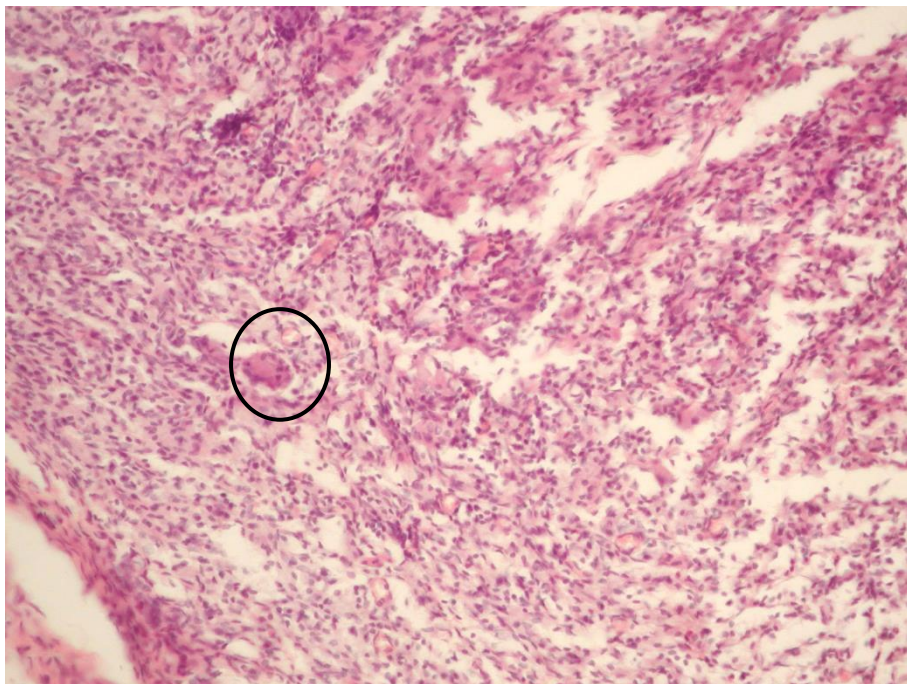


Рис. 3.25 Мікроскопічна картина тканинних змін представлена наявністю поодиноких багатоядерних клітин (позначено у колі), молодими кровоносними судинами, помірними склеротичними змінами на 28-му добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

Сполучнотканинні волокна потовщуються переважно в периферійних відділах та продовжується їх формування в центральних ділянках, а також мають місце помірні склеротичні зміни в ендо- та перимізії.

Процес загоєння вогнища запалення в смугастій м'язовій тканині лабораторної тварини спостерігається шляхом вторинної альтерації та нагноєння, з подальшою резорбцією гнійного ексудату, процесами його організації, що починається з периферійних ділянок, та утворенням гігантських багатоядерних клітин. Застосування МСК прискорює процеси репарації. Це проявляється в швидшій резорбції гнійно-некротичних мас, більшій кількості фібробластичних та імунних клітин у вогнищі запалення, утворенні багатоядерних гігантських клітин у більш ранні терміни.

3.2.2 Клітинний склад центру вогнища запалення за вторинно хронічного запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

У запальному інфільтраті м'язової тканини стегна в центрі вогнища запалення на тлі введення МСК кількість нейтрофільних лейкоцитів, порівняно з контролем вже на 6-ту годину після введення МСК різко зростає (в 72,7 рази $p < 0,001$). Пік концентрації нейтрофілів припадає на 1-шу добу, перевищуючи контроль в 188,03 рази $p < 0,001$. Подальші терміни спостережень характеризуються поступовим зниженням рівня нейтрофілів з 2-ої доби, що може бути пояснено протизапальним ефектом МСК (табл 3.7).

Порівняно з природнім перебігом запалення вміст базофілів має тенденцію до підвищення з 6-ої години (в 85,39 разів $p < 0,001$) і до закінчення експерименту, але у початкові терміни це виражено більш істотно. Крім того, достовірне пікове значення базофілів щодо контролю спостерігається раніше – на 1-шу добу, перевищуючи контроль (в 252,32 рази $p < 0,001$). Реакція базофілів пов'язана з відповіддю всієї сполучної тканини, отримані дані можуть свідчити про більш виражені репаративні явища у гострій період запалення і зниження формування сполучної тканини у період хронічного

Таблиця 3.7

**Динаміка змін клітинного складу центру вогнища запалення за природнього перебігу вторинно хронічного запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин (абсолютне число клітин на $1,6 \times 10^{-9} \text{ м}^2$),
($M \pm m$, n=6)**

Терміни дослідження	Нейтрофіли	Базофіли	Еозинофіли	Лімфоцити	Моноцити	Плазмоцити	Макрофаги	Тканинні базофіли	Клітини фібробластич. ряду
Контроль	0,33±0,08	0,28±0,08	0,36±0,08	0,61±0,09	0,58±0,09	0,22±0,09	0,19±0,08	0,31±0,07	-
6 годин	24,0±0,22 ^{^^^}	23,91±0,30 ^{^^^}	4,26±0,19 ^{^^^}	6,03±0,15 ^{^^}	6,4±0,21 [^]	2,09±0,12 [^]	1,91±0,13 [^]	3,0±0,18 [^]	-
1-а доба	62,05±0,27 ^{^^^**}	70,37±0,25 ^{^^^**}	10,5±0,21 ^{^^^*}	10,37±0,17 ^{^^}	5,06±0,06 [^]	2,4±0,11 ^{^××}	2,11±0,11 [^]	4,34±0,13 [^]	
2-а доба	51,46±0,21 ^{^^^}	54,8±0,25 ^{^^^}	3,37±0,13 ^{^^*}	18,6±0,18 ^{^^}	15,29±0,17 ^{^^*}	21,03±0,28 ^{^^^***}	13,51±0,19 ^{^^**}	5,43±0,12 ^{^^}	1,37±0,15
3-я доба	13,8±0,21 ^{^^^**}	30,57±0,16 ^{^^^}	2,31±0,12 [^]	20,4±0,15 ^{^^^}	24,54±0,19 ^{^^^}	20,8±0,16 ^{^^^}	15,23±0,15 ^{^^}	2,74±0,13 [^]	2,23±0,08
5-а доба	15,54±0,12 ^{^^^}	16,71±0,20 ^{^^^*}	1,31±0,11 [^]	10,45±0,14 ^{^^}	25,91±0,18 ^{^^^}	10,49±0,10 ^{^^^*}	20,43±0,13 ^{^^^}	3,03±0,13 [^]	3,09±0,09
7-а доба	7,91±0,22 ^{^^^*}	10,37±0,01 ^{^^}	1,09±0,09	23,09±0,26 ^{^^^}	15,09±0,1 ^{^^}	4,82±0,13 ^{^^*}	35,63±0,17 ^{^^^}	0,77±0,24 ^{**}	20,43±0,12 ^{**}
10-а доба	3,2±0,09 ^{^^*×}	4,09±0,11 [*]	1,23±0,1	46,02±0,22 ^{^^^*}	20,63±0,13 ^{^^^}	18,09±0,18 ^{^^^**}	25,6±0,1 ^{^^^}	2,06±0,12 [^]	4,26±0,1 ^{**}
14-а доба	3,03±0,64 ^{^^×}	4,03±0,15	1,03±0,08	31,77±0,19 ^{^^}	10,43±0,12 ^{^^*}	10,6±0,17 ^{^^}	17,88±0,16 ^{^^}	2,34±0,11 [^]	15,25±0,16 [×]
21-а доба	1,77±0,16 ^{^^*}	3,31±0,09	2,03±0,12 [×]	60,06±0,19 ^{^^^*×}	18,86±0,19 ^{^^××}	15,6±0,12 ^{^^××}	20,43±0,17 ^{^^^}	2,06±0,14	17,17±0,19
28-а доба	1,23±0,07 [^]	1,29±0,08 ^{**××}	15,34±0,12 ^{^^^***}	40,94±0,15 ^{^^^}	9,34±0,19 ^{^^*××}	17,09±0,14 ^{^^×××}	25,11±0,15 ^{^^^×}	1,37±0,10	25,49±0,11 [×]

Примітка: [^] - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ^{^^} - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем; ^{^^^} - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем; * - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; ** - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; *** - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном; × - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення; ×× - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення; ××× - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення.

процесу.

Найвища кількість еозинофільних лейкоцитів в обох досліджуваних групах припадає на 1-шу та на 28-му доби спостереження. Надалі рівень еозинофілів поступово знижується. При цьому, починаючи з 3-ої доби дослідження, еозинофіли переважно локалізуються на периферії вогнища запалення.

Лімфоцити мають дещо іншу динаміку від описаних вище. Відтак, у групі запалення на тлі введення МСК рівень цих клітин поступово йде догори, з несуттєвими зниженнями на 5-ту та 14-ту добу, окрім того з 6-ої години до 7-ої доби кількість клітин на 10-ту добу є більшою на периферії, а з 14-ої доби – переважає у центральних ділянках, що можна пояснити проліферативними процесами в тій зоні. Також, починаючи з 7-ої до 28-ої доби рівень лімфоцитів значно вищий.

Зміни рівня вмісту моноцитів характеризуються поступовим підвищенням їх кількості з піком на 5-ту добу дослідження в порівнянні з контролем (в 44,67 разів $p < 0,001$).

Динаміка змін рівня вмісту плазмоцитів трохи подібна до змін моноцитів. Піком підвищення рівня плазмоцитів є 2-га доба (рівень вище в 95,59 разів, $p < 0,001$ в порівнянні з контролем), а далі відбувається їх зниження з найнижчим показником на 7-му добу.

Динаміка змін рівня кількості макрофагів демонструє синхронне підвищення підрахованих клітин в центрі та на периферії запальних інфільтратів до 7-ї доби (пік), перевищує контроль (в 187,52 рази, $p < 0,001$). З 10-ї доби, залишаючись на досить високому рівні, вони мають тенденцію до зниження.

В усі терміни спостереження виявляються тканинні базофіли. Їх кількість в центральних ділянках не дуже суттєво відрізняється від периферійних, але дещо перевищувала контроль з піком на 3-тю добу (вища в 17,52 рази $p < 0,01$) в порівнянні з контролем.

Клітини фібробластичного ряду з'являються в досліджуваних групах з

2-ої доби (поодинокі), підвищуються у кількості в центрі та більше на периферії вогнища запалення.

На 7-му, 21-шу та 28-му доби припадає різке підвищення їх вмісту. Клітини фібробластичного ряду, як і вище описані лімфоїдно-макрофагальні елементи, так само в більшій кількості виявляються в групі запалення на тлі застосування МСК.

3.2.3 Клітинний склад периферії вогнища запалення за вторинно хронічного запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

У запальному інфільтраті м'язової тканини стегна периферії вогнища запалення на тлі введення МСК кількість нейтрофільних лейкоцитів, порівняно з контролем вже на 6-ту годину після введення МСК різко зростає (в 69,7 рази $p < 0,001$). Пік концентрації нейтрофілів припадає на 1-шу добу, перевищуючи контроль (в 181,97 рази $p < 0,001$). Подальші терміни спостережень характеризуються поступовим зниженням рівня нейтрофілів з 2-ої доби, що може бути пояснено протизапальним ефектом МСК (табл. 3.8).

Порівняно з природнім перебігом запалення, вміст базофілів має тенденцію до підвищення з 6-ої години (в 74,68 разів $p < 0,001$) і до закінчення експерименту, але у початкові терміни це виражено більш істотно. Крім того, достовірне пікове значення базофілів щодо контролю спостерігається на 1-шу добу, перевищуючи контроль (в 197,75 рази $p < 0,001$). Реакція базофілів пов'язана з відповіддю всієї сполучної тканини, отримані дані можуть свідчити про більш виражені репаративні явища у гострий період запалення і зниження формування сполучної тканини у період хронічного процесу.

Найвища кількість еозинофільних лейкоцитів в обох досліджуваних групах припадає на 1-шу та на 28-му доби спостереження. Надалі рівень еозинофілів поступово знижується. Починаючи з 3-ої доби дослідження, еозинофіли переважно локалізуються на периферії вогнища запалення.

Таблиця 3.8

**Динаміка змін клітинного складу периферії вогнища запалення за природнього перебігу вторинно хронічного запалення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин (абсолютне число клітин на $1,6 \times 10^{-9} \text{ м}^2$),
($M \pm m$, n=6)**

Терміни дослідження	Нейтрофіли	Базофіли	Еозинофіли	Лімфоцити	Моноцити	Плазмоцити	Макрофаги	Тканинні базофіли	Клітини фібробластич. ряду
Контроль	0,33±0,08	0,28±0,08	0,36±0,08	0,61±0,09	0,58±0,09	0,22±0,09	0,19±0,08	0,31±0,07	-
6 годин	23,0±0,20 ^{^^}	20,91±0,50 ^{^^^}	4,4±0,19 ^{^^^}	5,8±0,5 ^{^^}	6,2±0,21 [^]	1,88±0,12 [^]	1,81±0,16 [^]	3,5±0,1 [^]	-
1-а доба	60,05±0,17 ^{^^^*} ×	55,37±0,45 ^{^^^*} ×	10,1±0,41 ^{^^^*}	9,37±0,27 ^{^^}	5,0±0,06 [^]	2,3±0,1 [^]	2,31±0,11 [^]	4,28±0,15 [^]	
2-а доба	50,4±0,1 ^{^^^}	53,8±0,15 ^{^^^}	3,37±0,23 ^{^^**}	17,6±0,18 ^{^^*}	13,2±0,16 ^{^^*}	19,9±0,2 ^{^^^***}	13,2±0,19 ^{^^**}	4,93±0,2 ^{^^}	1,37±0,1
3-я доба	11,8±0,11 ^{^^^**}	28,97±0,09 ^{^^^}	1,91±0,22 [^]	19,4±0,15 ^{^^^×}	22,54±0,15 ^{^^^*}	20,2±0,16 ^{^^^}	14,2±0,15 ^{^^}	2,94±0,13 [^]	2,23±0,08×
5-а доба	14,54±0,2 ^{^^^}	14,81±0,30 ^{^^^*}	1,2±0,09 [^]	10,2±0,14 ^{^^}	24,91±0,15 ^{^^^}	10,3±0,10 ^{^^^}	20,63±0,12 ^{^^^}	3,9±0,1 [^]	18,09±0,09*
7-а доба	6,96±0,23 ^{^^^*}	9,37±0,05 ^{^^*}	1,09±0,09	23,0±0,6 ^{^^^*}	14,08±0,1 ^{^^}	4,6±0,13 ^{^*×}	36,63±0,27 ^{^^^}	0,67±0,234	20,43±0,12
10-а доба	3,2±0,08 ^{^^×}	4,0±0,1 [*]	1,13±0,1 ^{×××}	45,02±0,22 ^{^^^*}	19,3±0,3 ^{^^^}	17,09±0,28 ^{^^^*}	24,6±0,1 ^{^^^}	2,16±0,1 [^]	4,26±0,1**
14-а доба	2,83±0,54 ^{^^}	3,53±0,5	1,0±0,08	31,77±0,9 ^{^^×}	9,4±0,12 ^{^^*×}	9,6±0,17 ^{^^}	17,86±0,15 ^{^^}	2,48±0,21 [^]	20,25±0,16
21-а доба	1,67±0,18 [^]	3,21±0,09	2,1±0,1	50,6±0,19 ^{^^^}	10,86±0,1 ^{^^}	13,6±0,32 ^{^^}	19,43±0,6 ^{^^^}	2,19±0,04	25,17±0,19
28-а доба	1,21±0,06 [^]	1,19±0,09 ^{*×}	12,34±0,15 ^{^^^**}	40,5±0,1 ^{^^^}	8,4±0,19 [^]	12,09±0,34 ^{^^}	22,9±0,7 ^{^^^}	1,64±0,4	38,49±0,11

Примітка: [^] - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ^{^^} - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем; ^{^^^} - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем; * - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; ** - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; *** - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном; × - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення; ×× - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення; ××× - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення.

Лімфоцити мають дещо іншу динаміку в порівнянні з описаними вище. Відтак, у групі запалення на тлі введення МСК рівень цих клітин поступово йде догори, з несуттєвими зниженнями на 5-ту та 14-ту доби. Крім того, з 6-ої години до 7-ої доби кількість клітин є більшою на периферії, а з 10-ої доби – переважає у центральних ділянках, що можна пояснити проліферативними процесами в тій зоні. Також, починаючи з 7-ої до 28-ої доби рівень лімфоцитів значно вищий.

Зміни рівня вмісту моноцитів характеризуються поступовим підвищенням їх кількості з піком на 5-ту добу дослідження в порівнянні з контролем (в 42,95 рази $p < 0,001$).

Динаміка змін рівня вмісту плазмоцитів трохи подібна до змін моноцитів. Піком підвищення рівня плазмоцитів є 3-тя доба (рівень вище в 91,81 рази $p < 0,001$ в порівнянні з контролем), а далі відбувається їх зниження з найнижчим показником на 7-му добу, окрім того, починаючи з 5-ої доби, їх кількість на периферії нижча, ніж у центральних ділянках.

Динаміка змін рівня кількості макрофагів демонструє синхронне підвищення підрахованих клітин в центрі та на периферії запальних інфільтратів до 7-ої доби (пік), перевищує контроль (в 192,79 рази, $p < 0,001$). З 10-ої доби, залишаючись на досить високому рівні, вони мають тенденцію до зниження.

В усі терміни спостереження виявляються тканинні базофіли. Їх кількість в центральних ділянках не дуже суттєво відрізняється від периферійних, але дещо перевищувала контроль з піком на 5-ту добу (вища в 12,58, рази $p < 0,01$) в порівнянні з контролем.

Клітини фібробластичного ряду з'являються в досліджуваних групах з 2-ої доби (поодинокі), підвищуються у кількості в центрі та більше на периферії запальних осередків. На 7-му, 24-ту та 28-му добу припадає різке підвищення їх вмісту.

3.2.4 Кістковомозкове кровотворення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

При запаленні на тлі використання МСК у порівнянні з природним перебігом запалення загальна кількість БК дещо перевищує контроль на 6-ту годину і значно вище на на 14-ту, 21-шу та 28-му доби, відповідно в 2,04 рази, $p < 0,05$, 2,89 рази $p < 0,05$ та 2,27 рази $p < 0,05$. З 3-ої до 10-ої доби спостерігається тенденція до зменшення кількості БК. Загалом, кількість БК на ранніх та пізніх стадіях запалення, спричинених введенням МСК, вища (табл. 3.9).

При запаленні на тлі застосування МСК у порівнянні з природним перебігом запалення спостерігається значне збільшення кількості незрілих нейтрофілів між 6-ою годиною та 2-ою, а також з 14-ої по 28-му доби з піком на 28-му добу, коли кількість незрілих нейтрофілів перевищувала контроль (в 3,5 разів $p < 0,01$). Більше того, спостерігається зменшення кількості незрілих нейтрофілів протягом 3-ї – 5-ї діб. Відставання кількості клітин на 3-тю і 5-ту доби свідчить про більш інтенсивний вихід з кісткового мозку в кров, а підвищення на 21-шу добу – менш інтенсивне кровотворення в період ХЗ за рахунок зменшення хронізації. Відмічається зсув піку з 28-ої на 21-шу добу, що, як і у випадку з бластними клітинами, відображає попередню активацію кровотворення.

При запаленні на тлі використання МСК у порівнянні з контролем, кількість зрілих нейтрофілів значно вища на 6-ту годину у 2,35 рази ($p < 0,01$) та значно нижча на 5-ту добу (відповідно в 1,6 рази, $p < 0,05$). Надлишок зрілих нейтрофілів до 6-ої години можна пояснити більш інтенсивним кровотворенням, відставання на 5-ту добу – більш інтенсивним виділенням клітин з кісткового мозку в кров.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з природним перебігом запалення вміст еозинофілів значно нижчий на 3-тю та 5-ту доби (відповідно в 5,2 рази, $p < 0,05$ та 2,3 рази, $p < 0,001$), але суттєво вище на 7-му добу (в 3,3 рази, $p < 0,01$). Це свідчить про те, що більше еозинофілів

Таблиця 3.9

ЗКК та мієлограма щурів ($\times 10^6$ /стегно) у динаміці вторинно хронічного запалення на тлі введення МСК, ($M \pm m$, $n=6$)

Терміни дослідження	Мієлокаріюцити	Мега-каріюцити	Бластні клітини	Зрілі нейтрофіли	Незрілі нейтрофіли	Еозинофіли	Лімфоцити	Моноцити	Еритроцитарний паросток
Контроль	102,83 \pm 19,34	0,054 \pm 0,004	1,56 \pm 0,51	16,63 \pm 3,50	5,58 \pm 1,61	4,76 \pm 1,19	50,4 \pm 11,71	3,5 \pm 0,93	16,73 \pm 3,17
6 годин	134,67 \pm 13,01* $\times\text{хх}$	0,045 \pm 0,004	1,08 \pm 0,33*	39,1 \pm 4,01** $\times\text{ххх}$	10,93 \pm 2,01 \times	0,75 \pm 0,15**	58,21 \pm 9,33* \times	2,14 \pm 0,38**	1,08 \pm 0,33*
1-а доба	137,20 \pm 53,44	0,043 \pm 0,005	0,81 \pm 0,12*	27,5 \pm 8,6 \times	7,8 \pm 2,1 \times	3,52 \pm 1,61*	87,24 \pm 25,17	4,71 \pm 1,14*	0,81 \pm 0,12*
2-а доба	132,67 \pm 25,60	0,047 \pm 0,008	1,9 \pm 0,5	16,22 \pm 3,38**	12,70 \pm 2,83	5,96 \pm 1,72	78,59 \pm 19,83 \times	11,12 \pm 3,34	1,9 \pm 0,5
3-я доба	54,33 \pm 6,28*** \wedge	0,056 \pm 0,006	0,46 \pm 0,13*** \wedge	11,31 \pm 1,13**	5,02 \pm 0,67*** \wedge	0,37 \pm 0,1*** $\wedge\text{х}$	32,03 \pm 3,54*** \wedge	1,44 \pm 0,10*** \wedge	0,46 \pm 0,13*** \wedge
5-а доба	36,17 \pm 4,3*** $\times\text{ххх}$	0,035 \pm 0,010	0,29 \pm 0,02*** $\times\text{ххх}$	9,94 \pm 1,41* $\times\text{ххх}$	3,94 \pm 0,7*** $\times\text{ххх}$	0,79 \pm 0,1*** $\wedge\text{ххх}$	19,4 \pm 1,8*** $\wedge\text{ххх}$	2 \pm 0,1*** $\wedge\text{ххх}$	0,29 \pm 0,02*** $\times\text{ххх}$
7-а доба	41,50 \pm 11,14***	0,032 \pm 0,010	0,22 \pm 0,04**	16,89 \pm 4,42**	4,0 \pm 0,9*** \wedge	1,00 \pm 0,21** $\times\text{хх}$	12,35 \pm 2,76***	0,61 \pm 0,3*** $\wedge\text{хх}$	0,22 \pm 0,04**
10-а доба	95,50 \pm 11,02 $\wedge\wedge$	0,056 \pm 0,009	0,8 \pm 0,22* \wedge	11,24 \pm 1,25** $\times\text{ххх}$	6,22 \pm 0,72*** $\wedge\wedge$	2,08 \pm 0,57**	49,26 \pm 6,95*** $\wedge\wedge\wedge$	1,51 \pm 0,30**	0,8 \pm 0,22* \wedge
14-а доба	209,33 \pm 15,32*** $\wedge\wedge\wedge$	0,057 \pm 0,004*	1,7 \pm 0,25 $\wedge\text{х}$	26,64 \pm 2,51*** $\wedge\wedge\wedge$	13,05 \pm 1,54 $\wedge\wedge\wedge\text{х}$	3,73 \pm 0,30* \wedge	124,3 \pm 8,7*** $\wedge\wedge\wedge\text{х}$	5,5 \pm 0,5 $\wedge\wedge\wedge\text{хххх}$	1,7 \pm 0,25 $\wedge\text{х}$
21-а доба	297,33 \pm 28,31* $\times\text{хх}$	0,078 \pm 0,006	1,67 \pm 0,12 \times	42,27 \pm 4,20 $\wedge\wedge\wedge\text{ххх}$	12,42 \pm 2,14 \times	5,97 \pm 1,14	168,1 \pm 13,9*** $\wedge\text{х}$	6,0 \pm 0,48*	1,67 \pm 0,12 \times
28-а доба	233,33 \pm 37,91*	0,065 \pm 0,002	1,6 \pm 0,59	28,36 \pm 4,51	19,6 \pm 2,9	5,85 \pm 1,01	159,12 \pm 21,60*	11,31 \pm 1,10 $\wedge\wedge\wedge$	1,6 \pm 0,59

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) порівняно з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) порівняно з контролем; \wedge - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; $\wedge\wedge$ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; $\wedge\wedge\wedge$ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном; \times - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення; $\times\text{х}$ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення; $\times\text{хх}$ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з тим же терміном природнього перебігу запалення.

потрапляє в кров через 3-тю та 5-ту доби з більшою активізацією кровотворення на 7-му добу через гіперплазію кісткового мозку, ніж під час природного перебігу процесу.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з природним перебігом вміст моноцитів набагато вищий на 14-ту добу і менше на 5-ту добу (2,6 рази, $p < 0,001$ та 2,1 рази, $p < 0,001$ відповідно).

Таким чином, при запаленні на тлі використання МСК у порівнянні з природним перебігом активація моноцитопоезу на ранніх стадіях виявляється більш вираженою, а на пізніх стадіях – не суттєво змінюється. Це пов'язано зі зменшенням хронізації запалення.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з його природним перебігом вміст лімфоцитів значно вищий на 6-ту годину, 2-гу та 14-ту доби (відповідно в 1,8 рази, $p < 0,05$, 2,6 рази, $p < 0,05$ та 1,82 рази, $p < 0,05$) і нижче на 5-ту та 21-шу доби (відповідно 2,4 рази, $p < 0,001$, 1,12 рази, $p < 0,05$).

Таким чином, вміст лімфоцитів вищий протягом перших 14-ти діб запалення і нижчий на пізніх термінах, що відповідає періоду ХЗ. Результати показують, що активація лімфопоезу в цьому випадку більша, ніж при природному перебігу запалення, а в період хронізації процесу – менша, що свідчить про зменшення хронізації.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з його природним перебігом вміст еритроїдних клітин значно вищий на 6-ту годину і 10-ту добу (відповідно 2,22 рази, $p < 0,01$, 1,71 разів, $p < 0,05$) і значно менше на 1-шу, 5-ту та 21-шу доби (відповідно 2,22 рази, $p < 0,05$, 2,54 рази, $p < 0,01$, в 1,45 рази, $p < 0,05$). Спостерігається зсув максимуму з 1-ої доби на 6-ту годину, що свідчить про більшу активацію кровотворення порівняно з природним перебігом запалення.

Таким чином, у разі запалення на тлі використання МСК у порівнянні з природним перебігом процесу на ранніх стадіях запалення, більше лейкоцитів мігрує до вогнища порівняно з більш віддаленими термінами, оскільки вони менші. Також було показано, що на ранніх стадіях відбувається більше

вимивання клітин з кісткового мозку в кров, більш суттєво стимулюється кровотворення, а на пізніх стадіях, що відповідають періоду ХЗ, – менша активації кровотворення.

Очевидно, що це пов'язано з тим, що посилена міграція лейкоцитів до місця запалення на ранніх стадіях процесу забезпечує більш ефективний контроль флогогену і, отже, меншу хронізацію процесу.

У порівнянні з природним перебігом запалення, загальна кількість БК, як видно, перевищує на 6-ту годину і значно вище на 14-ту добу (в 1,79 рази, $p < 0,05$) і значно нижче на 21-шу добу – (в 1,78 дня, $p < 0,05$), і надалі спостерігається тенденція до зменшення кількості БК до 28-ої доби. Загалом кількість БК на ранніх стадіях запалення з введенням МСК, вища, а на пізніх стадіях нижча, ніж при природному перебігу запалення.

При запаленні на тлі застосування МСК у порівнянні з природним плином спостерігається значне збільшення кількості незрілих нейтрофілів на 6-ту годину і 14-ту добу (відповідно в 1,54 рази, $p < 0,05$ і в 2,12 рази, $p < 0,05$). Більше того, спостерігається значне зменшення кількості незрілих нейтрофілів протягом 1-ої та 5-ої доби (відповідно в 2,22 рази, $p < 0,05$ і в 2,54 рази, $p < 0,01$). Відставання кількості клітин на 1-шу і 5-ту доби свідчить про більш інтенсивний вихід з кісткового мозку в кров, а решта з 21-ої по 28-му добу на менш інтенсивне кровотворення в період ХЗ за рахунок зменшення хронізації. Відмічається зсув піку з 21-ої на 14-ту добу, що, аналогічно з бластними клітинами, відображає попередню активацію кровотворення.

При запаленні на тлі використання МСК у порівнянні з природним перебігом запалення, кількість зрілих нейтрофілів значно вища на 6-ту годину (у 2,66 рази $p < 0,01$) та значно нижча на 1-шу та 5-ту доби (відповідно в 2,43 рази, $p < 0,05$ та 2,3 рази, $p < 0,05$). Надлишок зрілих нейтрофілів до 6-ої години можна пояснити більш інтенсивним кровотворенням, а відставання на 1-шу – 5-ту-доби більш інтенсивним виділенням клітин з кісткового мозку в кров. Затримка на 21-шу та 28-ту добу - менш інтенсивне кровотворення в період ХЗ через зменшення хронізації.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з природним перебігом запалення вміст еозинофілів значно нижчий на 3-тю та 5-ту доби (відповідно в 2,88 рази, $p < 0,01$ та 1,6 рази, $p < 0,01$), але суттєво вище на 7-му добу в 4,3 рази, $p < 0,01$. Це свідчить про те, що більше еозинофілів потрапляє в кров на 3-тю і 5-ту добу, відбувається активація кровотворення на 7-му добу через гіперплазію кісткового мозку в порівнянні з природним перебігом запального процесу.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з природним перебігом вміст моноцитів набагато вищий на 14-ту добу і менший на 5-ту добу (2,2 рази, $p < 0,001$ та 2,4 рази, $p < 0,001$ відповідно). Таким чином, при запаленні на тлі використання МСК у порівнянні з природним перебігом активація моноцитопоезу на ранніх стадіях виявляється більш вираженою, а на пізніх стадіях - менше. Це пов'язано зі зменшенням ХЗ.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з його природним перебігом вміст лімфоцитів значно вищий на 6-ту годину, 2-гу та 14-ту доби (відповідно в 1,79 рази, $p < 0,05$, 2,44 рази, $p < 0,05$ та 1,63 рази, $p < 0,05$) і нижчий через 5-ту та 21-шу доби (відповідно 2,28 рази, $p < 0,001$, 1,19 рази, $p < 0,05$).

Таким чином, вміст лімфоцитів вищий протягом перших 14-ти діб запалення і нижчий на пізніх термінах, що відповідає періоду ХЗ. Результати показують, що активація лімфопоезу в цьому випадку більша, ніж при природному перебігу запалення, а в період хронізації процесу – менша, що свідчить про зменшення інтенсивності запалення.

При запаленні на тлі використання МСК порівняно з його природним перебігом вміст еритроїдних клітин значно вищий на 6-ту годину і 10-ту добу (відповідно 2,64 рази, $p < 0,01$, 1,51 рази, $p < 0,05$) і значно менший на 1-шу, 5-ту та 21-шу доби (відповідно 2,14 рази, $p < 0,05$, 2,66 рази, $p < 0,01$, в 1,28 рази, $p < 0,05$). Спостерігається зсув максимуму з 1-ої доби на 6-ту годину, що свідчить про більшу активацію кровотворення порівняно з природним перебігом запалення.

Таким чином, у разі запалення на тлі використання МСК у порівнянні з природним перебігом процесу на ранніх стадіях запалення, більше лейкоцитів мігрує до вогнища порівняно з більш віддаленими термінами. Також було показано, що на ранніх стадіях відбувається більше вимивання клітин з кісткового мозку в кров, більш суттєво стимулювалося кровотворення, а на пізніх стадіях, що відповідають періоду ХЗ – відмічалась менша активація кровотворення.

Очевидно, що це пов'язано з тим, що посилена міграція лейкоцитів до місця запалення на ранніх стадіях процесу забезпечує більш ефективний вплив на флогоген і, отже, менш виражений запальний процес.

3.2.5. Лейкоцитарна реакція периферичної крові. Лейкоцитарно-моноцитарне співвідношення на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

Порівняно з природним перебігом запалення ЗКЛ у крові при запаленні на тлі застосування МСК змінювалась хвилеподібно з піком на 10-ту добу. В цілому, спостерігалась тенденція більш високих показників ЗКЛ в пізні терміни (табл. 3.10).

При запаленні на тлі застосування МСК на відміну від природнього перебігу запалення зменшення ЗКЛ спостерігається на 7-му добу, що пов'язано з посиленням виходом лейкоцитів у вогнище запалення. Спочатку запальна реакція менш виражена, ніж за природнього перебігу запалення. Посилене залучення лейкоцитів на 14-ту – 21-шу доби, очевидно, приводить до більшої елімінації флогогена в цей період і зниження потреби в лейкоцитах в період хронізації запалення, тобто про позитивний вплив МСК для профілактики хронізації запалення.

При запаленні на тлі застосування МСК відмічалось достовірне підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів на 6-ту годину, що свідчить про менш виражену міграцію у вогнище, менш виражений гемопоез в цей період. У подальші терміни дослідження рівень сегментоядерних

нейтрофілів майже не відрізнявся від контролю при природньому перебігу запалення.

Вміст паличкоядерних нейтрофілів на тлі застосування МСК на 6-ту годину та на 1-шу добу в крові достовірно перевищує контроль (відповідно у 2,2 рази, $p < 0,05$, 2,6 раз, $p < 0,01$). Пікове значення паличкоядерних нейтрофілів відповідає 10-й добі, коли їх рівень в 3,28 разів, $p < 0,001$, перевищує контроль. В інші терміни дослідження рівень паличкоядерних нейтрофілів істотно не відрізнявся від контролю і також не відрізнявся від попередніх термінів дослідження.

Порівняно з природнім перебігом запалення кількість паличкоядерних нейтрофілів достовірно менша на 7-му добу (відповідно в 2,9 рази, $p < 0,05$).

Це співпадає з тенденціями у відмінностях сегментоядерних нейтрофілів і також свідчить про те, що достовірне зменшення вмісту паличкоядерних нейтрофілів порівняно з природнім перебігом запалення може бути пов'язано зі зниженням їх міграції у вогнище і відповідно менш вираженим гемопоезом у зв'язку зі зниженням хронізації запалення.

При запаленні на тлі застосування МСК вміст еозинофілів достовірно підвищується на 10-ту добу, коли виявляється виражена еозинофілія, пов'язана з посиленням гемопоезу в період залучення гранулоцитів, що відповідає періоду хронізації запалення.

Вміст моноцитів у динаміці запалення на тлі застосування МСК достовірно відрізняється від контролю на 3-тю, 7-му, 10-ту і 21-шу доби. Це, ймовірно, пов'язано з повторним посиленням виходом моноцитів у вогнище у зв'язку з хронізацією запалення.

Порівняно з природнім перебігом запалення спостерігається достовірне зниження кількості моноцитів на 21-шу добу (відповідно в 2,02 рази, $p < 0,01$), і свідчить про те, що застосування МСК зменшує хронізацію запалення.

Таблиця 3.10

**Лейкоцити периферійної крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$) у динаміці вторинно хронічного запалення на тлі введення
МСК, ($M \pm m$, $n=6$)**

	ЗКЛ	Еозинофіли	Нейтрофіли паличкоядерні	Нейтрофіли сегментоядерні	Моноцити	Лімфоцити
Контроль	9 \pm 1,4309	0,3662 \pm 0,1137 $\times\times\times$	0,265 \pm 0,0308	2,0327 \pm 0,5458	0,17 \pm 0,0332	4,9995 \pm 1,2889
6 годин	10,1 \pm 1,228	0,3257 \pm 0,0417	0,5873 \pm 0,1228*	4,7523 \pm 0,8431*	0,363 \pm 0,1194	4,2548 \pm 0,4682
1-а доба	9,4667 \pm 0,3461	0,2925 \pm 0,1007	0,6755 \pm 0,1142**	3,1687 \pm 0,2678	0,1753 \pm 0,0331	5,1547 \pm 0,6224
2-а доба	9,5 \pm 0,5972	0,3907 \pm 0,1112	0,632 \pm 0,1697	2,9983 \pm 0,6499	0,307 \pm 0,079	5,172 \pm 0,4421
3-я доба	11,3333 \pm 1,2377	0,2958 \pm 0,0661	0,4463 \pm 0,1087	2,3268 \pm 0,4045	0,4833 \pm 0,0885**	7,781 \pm 0,7549*
5-а доба	10,4833 \pm 1,2106 \times	0,3873 \pm 0,0854	0,4243 \pm 0,0687	2,567 \pm 0,3276	0,3265 \pm 0,1026	6,7685 \pm 0,97 $\times\times$
7-а доба	8,9667 \pm 1,0217	0,2573 \pm 0,1322	0,4883 \pm 0,052 \times^*	1,8767 \pm 0,426 $\times\times$	0,5238 \pm 0,123*	5,943 \pm 0,61
10-а доба	12,2 \pm 1,1708	0,6377 \pm 0,1495*	0,8717 \pm 0,239***	3,6943 \pm 0,9874	0,6193 \pm 0,1127**	6,7877 \pm 0,9362
14-а доба	11,6833 \pm 1,6123	0,3055 \pm 0,0659	0,5175 \pm 0,1904	2,823 \pm 0,826	0,3075 \pm 0,0859 \wedge	7,7298 \pm 1,2254
21-а доба	10,2667 \pm 1,2981	0,3952 \pm 0,1073	0,396 \pm 0,0935	1,427 \pm 0,1783	0,4323 \pm 0,0687 $\times\times^{**}$	7,5987 \pm 1,0878
28-а доба	11,9833 \pm 1,5804	0,4888 \pm 0,1272	0,4007 \pm 0,044*	2,1928 \pm 0,3272	0,3088 \pm 0,074	8,5922 \pm 1,4856*

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) в порівнянні з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) в порівнянні з контролем; \wedge - ймовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) в порівнянні з попереднім терміном; $\wedge\wedge$ - ймовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) в порівнянні з попереднім терміном; $\wedge\wedge\wedge$ - ймовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) в порівнянні з попереднім терміном; \times - достовірність відмінності 95,00% ($p \leq 0,05$) в порівнянні з тим же терміном звичайного перебігу запалення; $\times\times$ - достовірність відмінності 99,00% ($p \leq 0,01$) в порівнянні з тим же терміном звичайного перебігу запалення; $\times\times\times$ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) в порівнянні з тим же терміном звичайного перебігу запалення.

При запаленні на тлі застосування МСК кількість лімфоцитів у крові на 6-ту годину запалення має тенденцію до підвищення порівняно з контролем у 1,72 раза, а на 28-му добу, а також в 1,56 разів на 3-тю добу.

Порівняно з природнім перебігом запалення воно достовірно менше на 5-ту добу в 1,65 раза, $p < 0,05$. В інші строки дослідження статистично не відрізняється від природнього перебігу запалення. Ці дані свідчать про те, що застосування МСК знижує інтенсивність хронізації запалення.

ЛМС є важливим прогностичним маркером дисфункції ендотелію та запалення [173]. Низький показник ЛМС корелює з погіршенням одужання і, ймовірно, є прогностичним критерієм розвитку захворювань, пов'язаних із хронічним запаленням [174 – 176]. Чим вищий показник ЛМС, тим кращий прогноз виживання та одужання для багатьох захворювань – раку, інсульту тощо [177, 178].

Ми виявили позитивну динаміку зі збільшенням терміну дослідження на тлі застосування МСК. З 3-ої доби до 28-ої доби показник ЛМС поступово підвищувався у групі тварин при природньому перебігу запалення на тлі застосування МСК, що свідчить про сприятливий прогноз щодо видужування та ймовірно може розглядатися як ізольований маркер динаміки ХЗ.

Виходячи з показників лейкоцитарної реакції периферичної крові та ЛМС в динаміці карагіненового вторинно ХЗ, застосування МСК призводить до зниження хронізації процесу, що свідчить про можливість використання МСК для профілактики ХЗ (рис. 3.26).

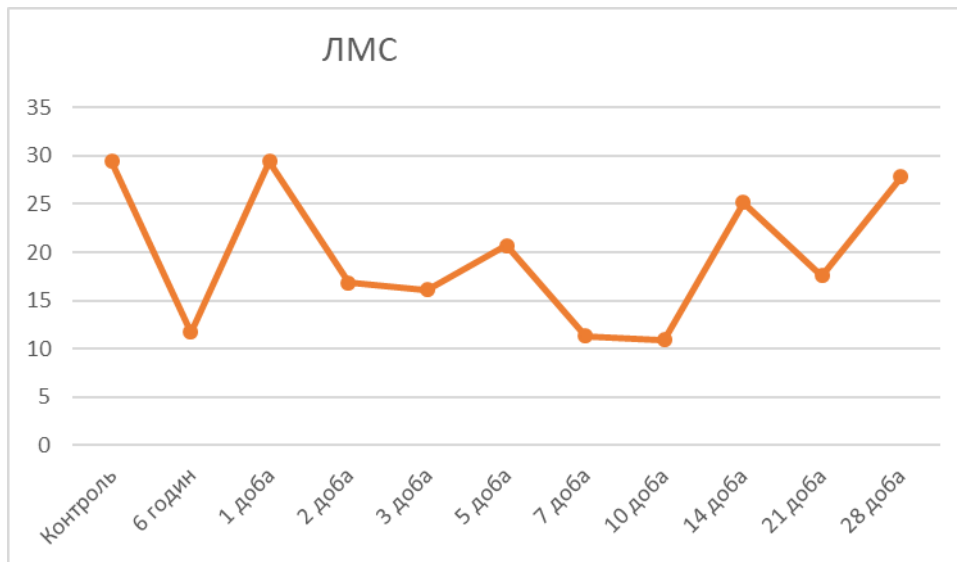


Рис. 3.26 Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення у динаміці природнього вторинно хронічного запалення на тлі застосування МСК

3.2.6. Продукція інтерлейкіну-6 та туморнекротичного фактору-альфа (рівні їх у крові) на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

Продукція TNF- α і IL-6 на тлі введення МСК суттєво відрізнялась в групі з введеними МСК без викликання запалення в порівнянні з інтактним контролем. Цей цікавий факт показує як драматично МСК здані пригнічувати прозапальні цитокіни в крові (табл. 3.11).

При вторинно ХЗ на тлі введення МСК концентрація TNF- α перевищувала контроль починаючи з 6-ої години з піком на 1-шу добу (в 1,45 разів, $p < 0,05$). Потім, з 3-ої доби спостерігалось поступове зниження рівню TNF- α впродовж усього дослідження. Достовірне зниження показника TNF- α при ХЗ на тлі введення МСК в порівнянні з природнім перебігом запалення відмічено протягом усього експерименту. З 6-ої години до 28-ої доби концентрація IL-6 поступово змінювалась хвилеподібно, але все ж достовірно була нижчою при ХЗ на тлі введення МСК протягом усього експерименту (відповідно в 4,04 раза ($p < 0,001$) на 6-ту годину; в 3,42 раза ($p < 0,001$) на 5-ту добу; в 3,17 раза ($p < 0,001$) на 14-ту добу; в 2,32 раза (p

<0,001) на 28-му добу). У ці ж терміни спостерігається невелике зниження концентрації ІЛ-6 в порівнянні з попередніми термінами.

Таблиця 3.11

Концентрація TNF- α і ІЛ-6 та СРБ у крові щурів (пг / мл) на тлі введення МСК (M \pm m, n = 6)

термін дослідження	TNF- α	ІЛ-6
Контроль	2,925 \pm 0,0306 $\times\times\times$	5,0275 \pm 0,0813 $\times\times\times$
6 годин	4,11 \pm 0,0245 $\times\times\times$	6,6833 \pm 0,0903 $\times\times\times$
1-а доба	4,2367 \pm 0,0246* $\times\times\times$	7,04 \pm 0,0795 $\times\times\times$
2-а доба	4,1967 \pm 0,0392 $\times\times\times$	4,67 \pm 0,1671 $\times\times\times$
3-я доба	4,03 \pm 0,0216 $\times\times\times$	6,02 \pm 0,0495 $\times\times\times$
5-а доба	3,9567 \pm 0,0409 $\times\times\times$	6,0133 \pm 0,0249 $\times\times\times$
7-а доба	3,04 \pm 0,0269 $\times\times\times$	4,5575 \pm 0,0708 $\times\times\times$
10-а доба	2,69 \pm 0,0338 $\times\times\times$	2,945 \pm 0,1655 $\times\times\times$
14-а доба	2,0833 \pm 0,0125 $\times\times\times$	3,0633 \pm 0,0301 $\times\times\times$
21-а доба	2,09 \pm 0,024 $\times\times\times$	3,2025 \pm 0,0291 $\times\times\times$
28-а доба	1,92 \pm 0,012 $\times\times\times$	3,415 \pm 0,0548 $\times\times\times$

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) порівняно з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) порівняно з контролем; ^ - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; ^^ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном; \times - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з тим же терміном звичайного перебігу запалення; $\times\times$ - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з тим же терміном звичайного перебігу запалення; $\times\times\times$ - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з тим же терміном звичайного перебігу запалення.

3.2.7. Продукція С-реактивного білку (рівень його в крові) на тлі введення мезенхімальних стовбурових клітин.

Продукція СРБ на тлі введення МСК суттєво відрізнялась в групі з введеними МСК без викликання запалення в порівнянні з інтактним контролем. Цей цікавий факт показує як драматично МСК здані пригнічувати прозапальні цитокіни в крові (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Концентрація СРБ у крові щурів (пг / мл) на тлі введення МСК ($M \pm m, n = 6$)

термін дослідження	СРБ
Контроль	0,8825±0,0524×××
6 годин	1,8567±0,0287* [^] ×××
1-а доба	1,96±0,0319*×××
2-а доба	1,9167±0,0301*×××
3-я доба	1,8633±0,0306*×××
5-а доба	0,7767±0,0246 [^] ×××
7-а доба	1,3175±0,0241×××
10-а доба	1,225±0,0334×××
14-а доба	0,9±0,0178×××
21-а доба	0,7575±0,022×××
28-а доба	0,7575±0,0248×××

Примітка: * - достовірність різниці 95,00% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** - достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$) порівняно з контролем; *** - достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) порівняно з контролем; [^] - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім терміном; ^{^^} - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з попереднім терміном; ^{^^^} - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з попереднім терміном; × - достовірність різниці 95,00% ($p \leq 0,05$) порівняно з тим же терміном звичайного перебігу запалення; ×× - достовірність різниці 99,00% ($p \leq 0,01$) порівняно з тим же терміном звичайного перебігу запалення; ××× - достовірність різниці 99,90% ($p \leq 0,001$) порівняно з тим же терміном звичайного перебігу запалення.

При вторинно ХЗ на тлі введення МСК концентрація СРБ до 6-ої години істотно підвищилась в порівнянні з контролем в (2,1 рази, $p < 0,05$). На 1-шу, 2-гу та 3-тю доби спостерігаємо також достовірне підвищення концентрації СРБ у периферичній крові на тлі введення МСК (відповідно в 2,34 рази, $p < 0,05$; і 2,22 рази $p < 0,05$ та в 2,18 рази $p < 0,05$) порівняно з контролем, а також відзначаємо підвищення концентрації СРБ порівняно з попереднім терміном відповідно на 5-ту добу (в 1,41 раз, $p < 0,05$).

Порівняно з природнім перебігом запалення концентрація СРБ у периферичної крові при запаленні на тлі застосування МСК достовірно нижча протягом усього експерименту.

Таким чином, як видно з вмісту цитокінів TNF- α , IL-6 та СРБ у периферичній крові в динаміці карагієнового вторинно ХЗ, застосування МСК призводить до зниження хронізації процесу, що сприятливо впливає на перебіг цього процесу і свідчить про можливість використання цього МСК для профілактики ХЗ.

Результати дослідження даного розділу наведені в наступних статтях:

1. Shevchenko O, Petryk N. Peculiarities of blood formation from bone marrow in secondary chronic inflammation on the background of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019; 9(12):309–318. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2019.09.12.031>

2. Petryk N, Shevchenko O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation*. 2020; 43,1893–1901. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>

3. Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res*. 2020; 13:293–301. <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

4. Petrik N, Shevchenko O. Correlation between lymphocyte-monocyte ratio and cytokines in chronic inflammation in rats treated with allogeneic mesenchymal

stem cells. *Inter Collegas*. 2020; 7(3):109–117.
<https://doi.org/10.35339/ic.7.3.109–117>

5. Shevchenko O, Petryk N. Dynamics of changes in the cellular composition of the focus of inflammation in secondary chronic inflammation with the introduction of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020; 9(1):295–309. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.01.033>

6. Петрик НД, Шевченко ОМ. Протизапальна активність мезенхімальних стовбурових клітин при хронічному запаленні, викликаному λ -каррагінаном у щурів. Патогенетичне обґрунтування. Протизапальні цитокіни. Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О. (Галицькі читання II) «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 2020 жовт. 29–30; Тернопіль. Тернопіль : ТНМУ імені І. Я. Горбачевського; 2020, с. 86–87.

7. Shevchenko OM, Petryk ND. The role of Mesenchymal stromal cells in aseptic inflammation: the initial preclinical research. Abstracts of 60. Österreichischen Chirurgenkongress; 2019 Juni 19–21; Innsbruck, Austria. Innsbruck; 2019, s. 98–99.

8. Шевченко ОМ, Петрик НД. Роль мезенхімальних стромальних клітин в асептичному запаленні: початкове доклінічне дослідження. Тези доповідей XVI Міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»; 2019 бер. 28–29; Харків. Харків: ХНУ ім. Каразіна, 2019, с. 286.

9. Шевченко ОМ, Петрик НД. Роль мезенхімальних стромальних клітин в асептичному запаленні: кістковомозкове кровотворення. Збірник II Міжнародної науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку науки та освіти»; 2020 вер. 15–16; Львів. Львів: Львівський науковий форум; 2020, с. 28.

10. Шевченко ОМ, Петрик НД. Противовоспалительная активность

мезенхимальных стволовых клеток при хроническом воспалении, вызванном λ -каррагиненом у крыс. лейкоцитарно-моноцитарное соотношение. Proceedings of the 6th International Scientific and Practical Conference «Scientific Horizon in the Context of Social Crises»; 2020 September 16–18; Tokyo, Japan. Tokyo, Japan: Otsuki Press; 2020, p. 95.

11. Petryk N. Mesenchymal stem cells work against chronic inflammation in rats. Abstracts of Webinar on Immunology Research; 2020 October 13; London, UK. *Journal of Autoimmune Disorders*. 2020; S(1):4.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У запальному інфільтраті м'язової тканини стегна в групах природного перебігу запалення і запалення на тлі введення МСК кількість нейтрофільних лейкоцитів (рис. 4.1), в порівнянні з групами інтактний контроль і контроль тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, вже на 6-ту годину після введення досліджуваних речовин різко зростає в центрі та на периферії вогнища запалення. У нашому дослідженні на 1-шу добу спостереження підвищується кількість нейтрофільних лейкоцитів в обох групах дослідження. При цьому в групі природного перебігу запалення їх пік припадає на 2-гу добу, а в групі запалення на тлі введення МСК на 1-шу добу. Подальші терміни спостережень характеризуються поступовим зниженням рівня нейтрофілів: відповідно з 3-ої доби в групі природного перебігу запалення і з 2-ої доби – в групі запалення на тлі введення МСК. У групі природного перебігу запалення у всі терміни спостереження кількість нейтрофілів у центрі вогнища незначно перевищує їх кількість на периферії. Подібна динаміка має місце у групі запалення на тлі введення МСК з 6-ої години до 10-ої доби, надалі - рівень нейтрофільних лейкоцитів є однаковим (мінімальним). Вірогідно, це відбувається через зміну якісного клітинного складу, а також через розрідження запального інфільтрату в центральних відділах. Наші данні співпадають з дослідженнями Zhang X. та інших, що доводить унікальність МСК як регулюючого агента при хронічному запаленні [179].

Зміна рівня базофільних лейкоцитів у вогнищі запалення досліджуваних груп також характеризується підвищенням їх кількості на 6-ту годину спостереження. Максимальне значення спостерігається на 2-гу добу у групі природного перебігу запалення з подальшим зниженням з 3-ої доби. У групі запалення на тлі введення МСК пік підвищення відмічається на 1-шу добу, а далі відбувається зниження їх кількості.

Нейтрофіли

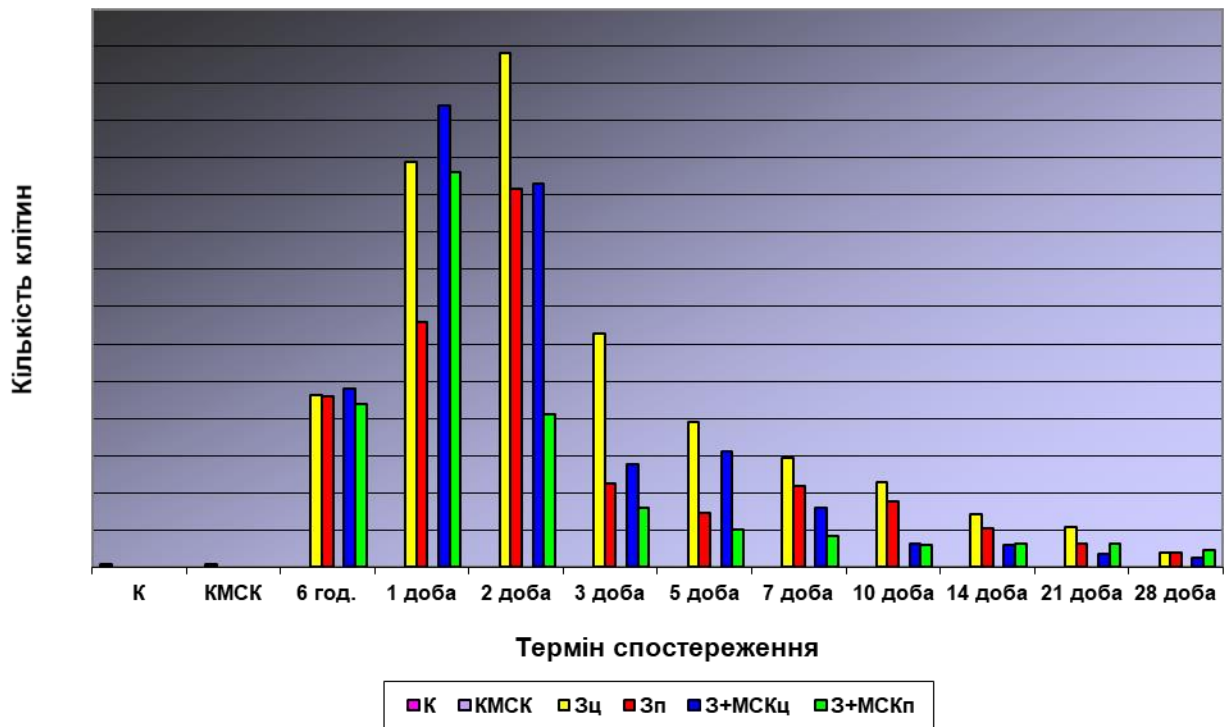


Рис 4.1. Динаміка кількості нейтрофільних лейкоцитів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К – інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

Також має місце незначне переважання рівня базофілів на периферії запального інфільтрату в групі природного перебігу запалення в терміни спостереження 14-та – 28-ма доби, що можна пов'язати зі зниженням клітинної щільності в центрі вогнища запалення (рис. 4.2).

Найвища кількість еозинофільних лейкоцитів в обох досліджуваних групах припадає на 1-шу добу спостереження. Надалі рівень еозинофілів поступово знижується.

Базофіли

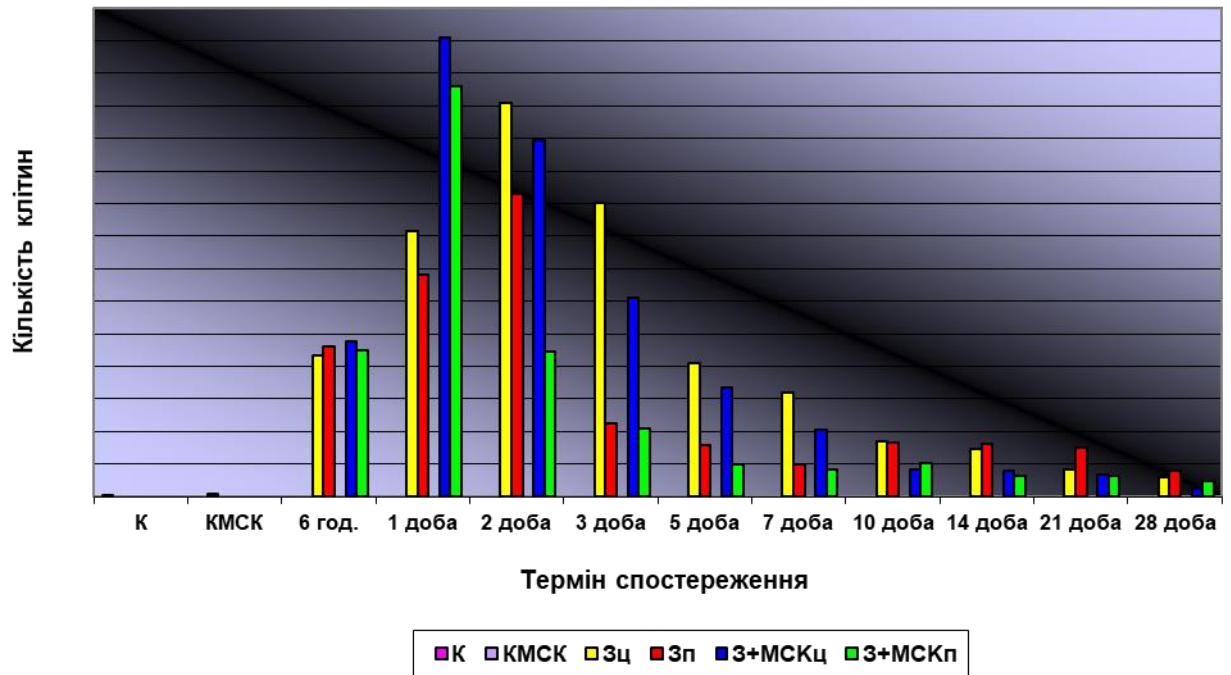


Рис 4.2. Динаміка кількості базофільних лейкоцитів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К – інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

При цьому, починаючи з 3-ої доби дослідження, еозинофіли в обох групах переважно локалізуються на периферії вогнища запалення. Цікаво, що на 28-му добу в групі запалення на тлі введення МСК має місце стрімке підвищення їх рівня (рис. 4.3).

Зміни рівня вмісту моноцитів характеризуються поступовим підвищенням їх кількості в обох групах з піком на 5-ту добу дослідження. Надалі в групі природного перебігу запалення спостерігається різке зниження їх кількості, зберігаючи вищий рівень на периферії.

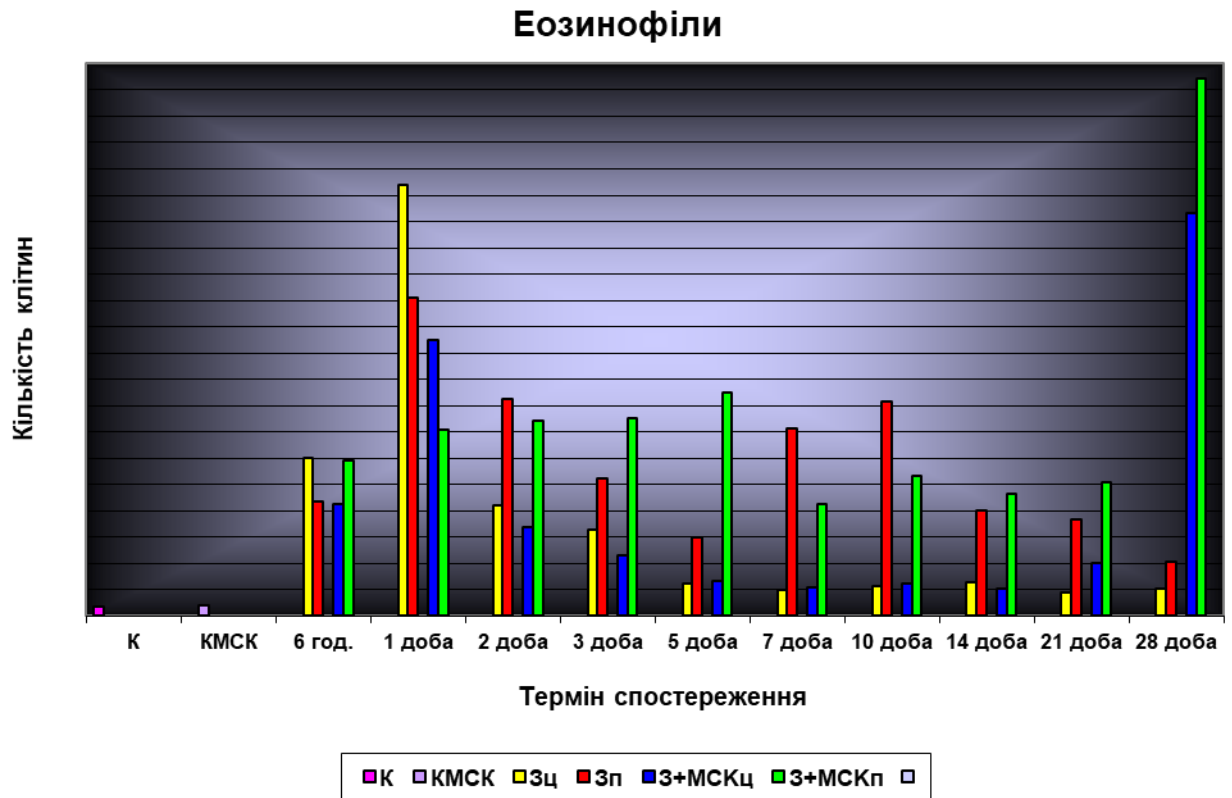


Рис 4.3. Динаміка кількості еозинофільних лейкоцитів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К – інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

Група запалення на тлі введення МСК хоча й також має зменшення рівня моноцитів (без суттєвої різниці між центром та периферією), але він перевищує такий у групі порівняння (рис. 4.4).

Динаміка змін рівня вмісту плазмоцитів (рис 4.5) трохи подібна до змін моноцитів. Відтак у групі природного перебігу запалення має місце поступове підвищення їх кількості в обох групах з піком на 5-ту добу дослідження.

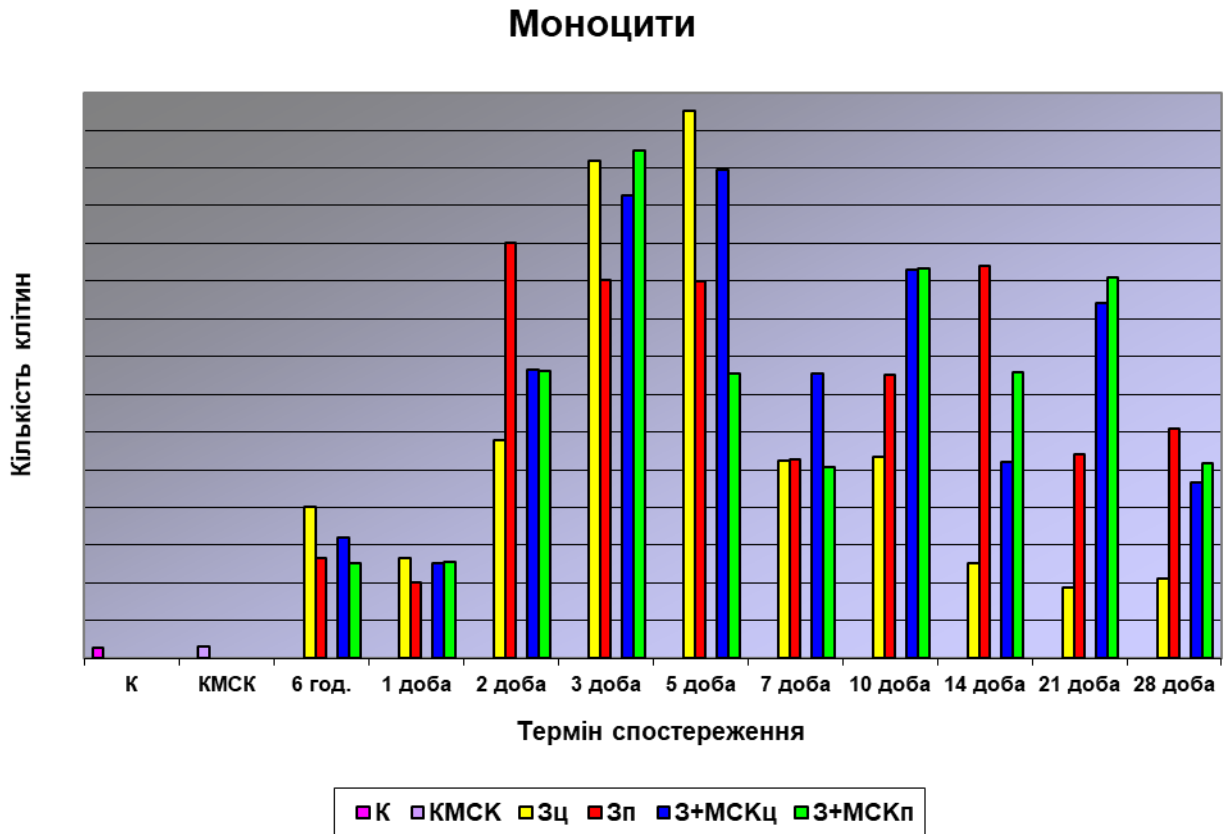


Рис 4.4. Динаміка кількості моноцитів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К– інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

Надалі в групі природного перебігу запалення спостерігається зниження їх кількості з дещо вищим рівнем на периферійних ділянках (рис 4.5). У групі запалення на тлі введення МСК з піком підвищення рівня плазмоцитів є 2-га доба, а далі відбувається їх зниження з найнижчим показником на 7-му добу, окрім того починаючи з 5-ої доби їх кількість на периферії перевищує центральні ділянки.

Плазмоцити

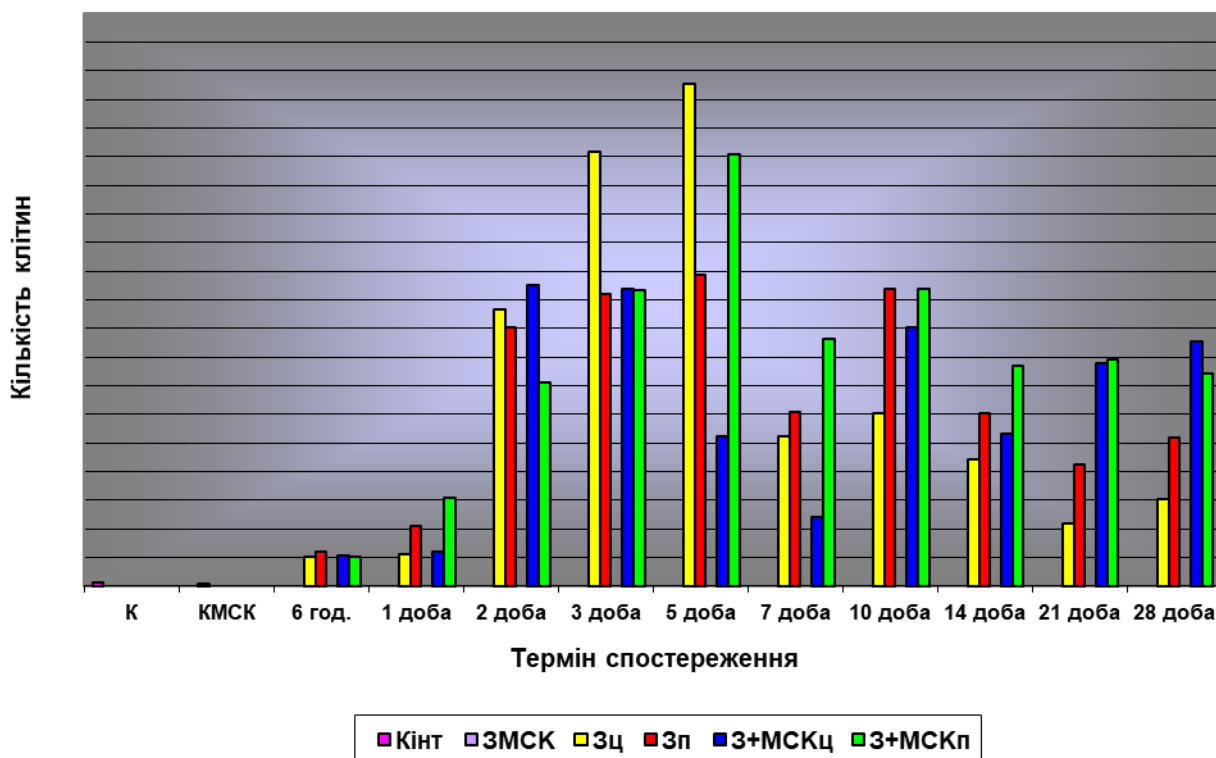


Рис 4.5. Динаміка кількості плазмоцитів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К– інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

Динаміка змін рівня кількості макрофагів (рис 4.6) демонструє синхронне підвищення підрахованих клітин в центрі та на периферії запальних інфільтратів до 7-ої доби (пік). З 10-ої доби, залишаючись на досить високому рівні, вони мають тенденцію до зниження в обох групах з домінуванням у периферійних ділянках.

Макрофаги

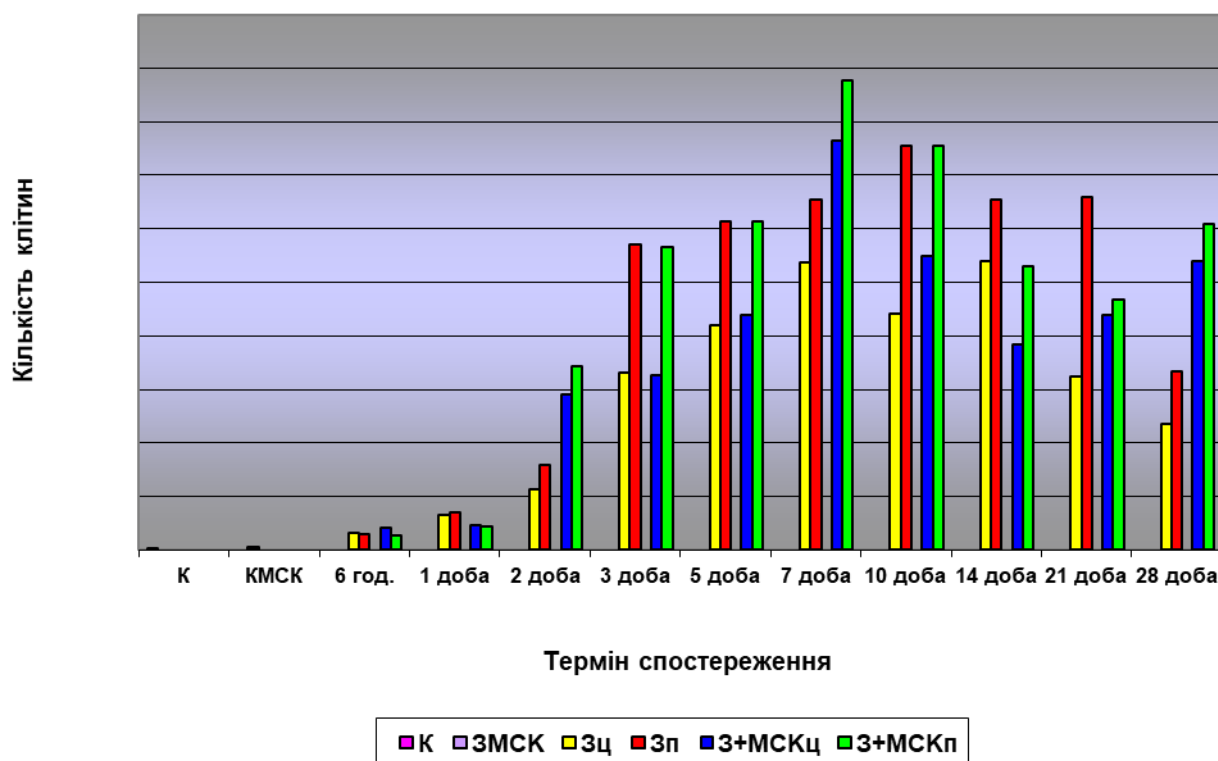


Рис 4.6. Динаміка кількості макрофагів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К– інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

В усі терміни спостереження в обох групах виявляються тканинні базофіли (рис 4.7) здебільшого на периферії запального вогнища. Їх кількість в центральних ділянках не дуже суттєво відрізняється від периферійних. А на 3-тю та 5-ту доби їх вміст, особливо на периферії запальних інфільтратів більший у групі запалення на тлі введення МСК.

Тканинні базофіли

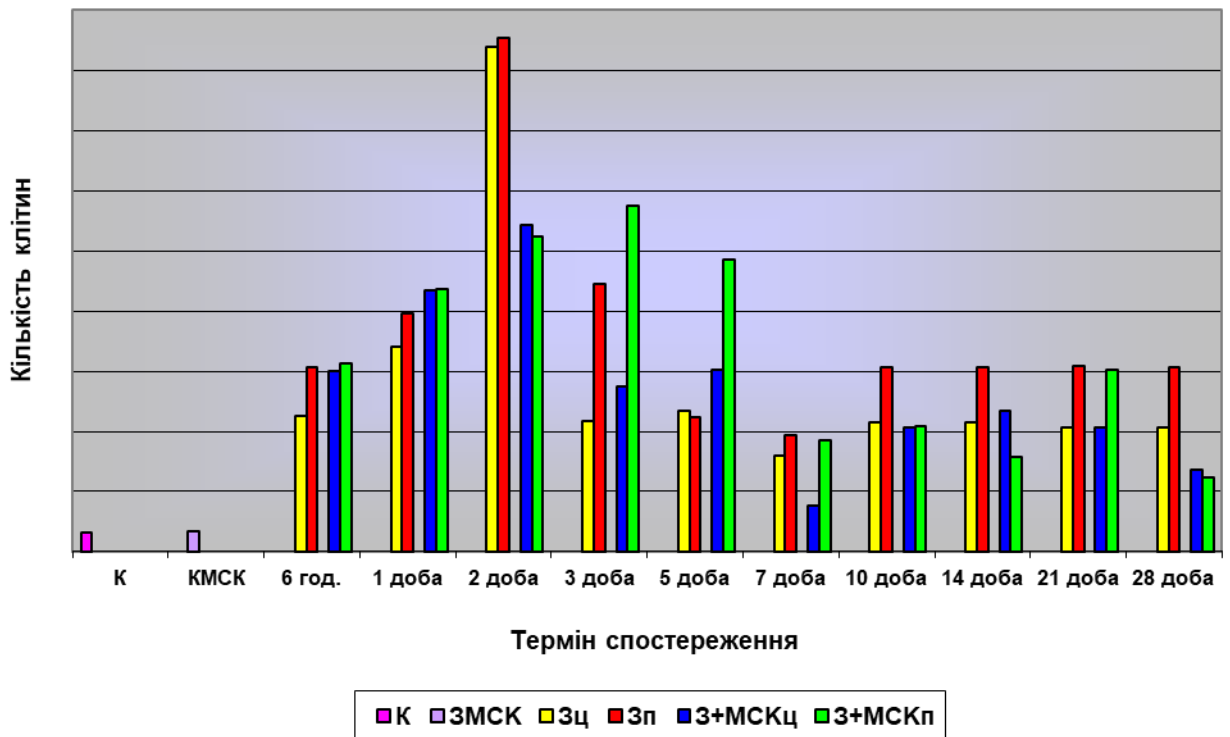


Рис 4.7. Динаміка кількості тканинних базофілів у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К – інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

Клітини фібробластичного ряду (рис 4.8) з'являються в досліджуваних групах з 2-ої доби (поодинокі), підвищуються у кількості в центрі та більше на периферії запальних вогнищ/осередків. У групі запалення на тлі введення МСК на 7-му, 21-шу та 28-му доби припадає різке підвищення їх вмісту, особливо на периферії. Тоді як в групі природного перебігу запалення спостерігається їх рівномірне підвищення з превалюванням на периферійних

ділянках. Клітини фібробластичного ряду, як і вище описані лімфоїдно-макрофагальні елементи, так само в більшій кількості виявляються в групі запалення на тлі введення МСК.

Клітини фібробластичного ряду

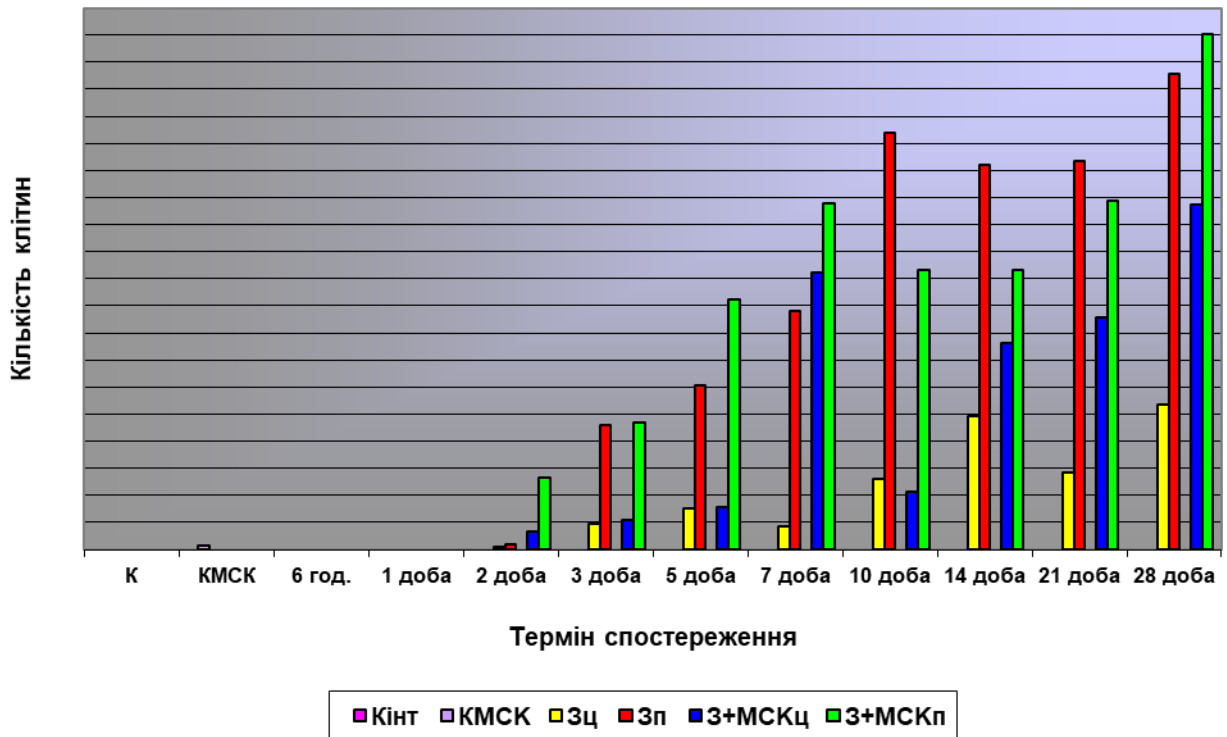


Рис 4.8. Динаміка кількості клітин фібробластичного ряду у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К – інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

На 21-шу та 28-му доби дослідження в обох групах спостерігається процес формування гігантських багатоядерних клітин (рис 4.9), що є більш виразніший у групі запалення на тлі введення МСК.

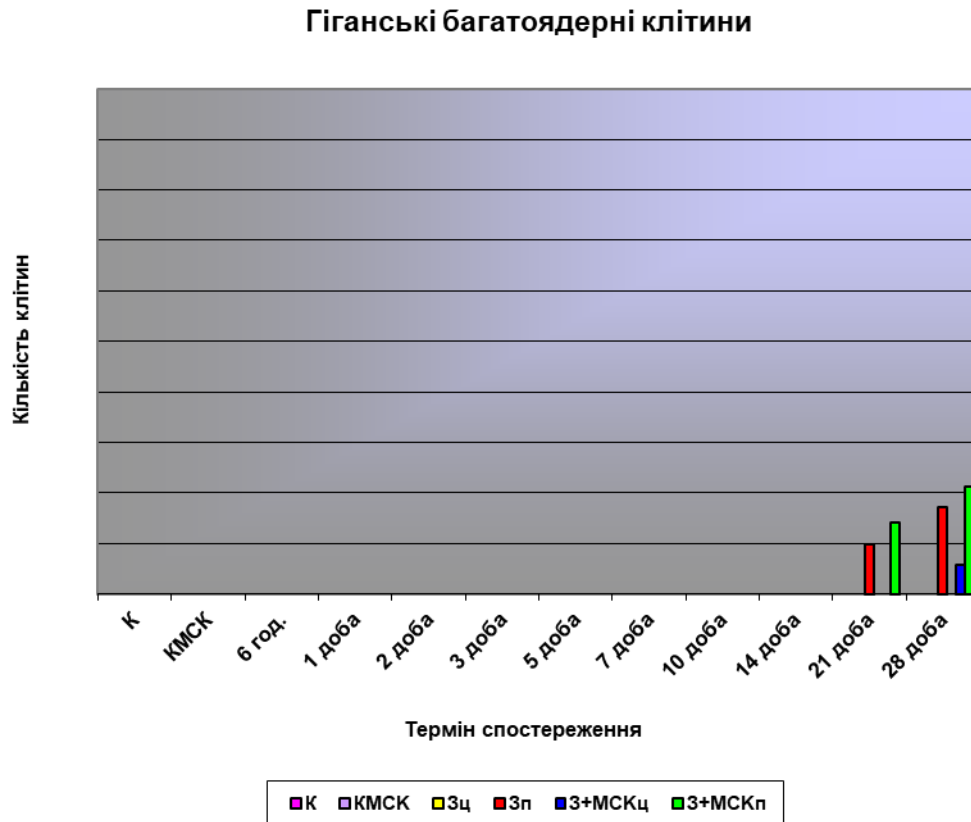


Рис 4.9. Динаміка кількості гігантських багатоядерних клітин у центрі та на периферії вогнища запалення в залежності від терміну спостереження. К– інтактний контроль, КМСК – контроль на тлі введення МСК без подальшого викликання запалення, З+МСК – група запалення на тлі введення МСК, Зц – центр вогнища природного перебігу запалення, Зп – периферичні ділянки вогнища природного перебігу запалення, З+МСКц – центр вогнища запалення на тлі введення МСК, З+МСКп – периферичні ділянки вогнища запалення на тлі введення МСК.

Дослідження динаміки змін клітинного складу запального вогнища виявило, що підвищення рівня нейтрофільних, базофільних і еозинофільних лейкоцитів виявляється в терміні спостереження 6-та година – 3-тя доба з піками їх вмісту: нейтрофілів і базофілів – на 1-шу (група запалення на тлі введення МСК) та 2-гу добу (група природного перебігу запалення), з домінуванням у центральних відділах вогнища запалення, еозинофілів – на 1-шу добу і незначним зниженням на 2-гу, і аналогічно з превалюванням у

периферичних зонах. Цікавим є факт різкого стрибка рівня еозинофілів у групі запалення на тлі введення МСК на 28-му добу.

Описана цитологічна картина клітинного складу з переважанням названих клітинних елементів вказує на фазу ексудації запального процесу.

З 3-ої–5-ої доби в клітинному складі інфільтрату на фоні зниження вмісту гранулоцитів спостерігається зростання лімфоцитів, моноцитів, макрофагів, плазмоцитів, тканинних базофілів, клітин фібробластичного ряду. Даний факт вказує на перехід та початок фази проліферації. Найбільша концентрація цих елементів у цілому спостерігається в периферичних зонах в обох досліджуваних групах і переважає в групі запалення на тлі введення МСК. Це дає змогу говорити про превалювання процесів проліферації та організації в периферичних ділянках, особливо в групі запалення на тлі введення МСК.

Клітини фібробластичного ряду, лімфоїдно-макрофагальні елементи в більшій кількості виявляються в групі запалення на тлі введення МСК, 21-шу та 28-му доби дослідження в обох групах спостерігається процес формування гігантських багатоядерних клітин, що є більш виразніший у групі запалення на тлі введення МСК.

Процес загоєння осередку запалення в смугастій м'язовій тканині лабораторної тварини спостерігається шляхом вторинної альтерації та нагноєння, з подальшою резорбцією гнійного ексудату, процесами його організації, що починається з периферійних ділянок, та утворенням гігантських багатоядерних клітин. Застосування МСК прискорює процеси репарації. Це проявляється в швидшій резорбції гнійно-некротичних мас, більшій кількості фібробластичних та імунних клітин у вогнищі запалення, утворенні багатоядерних гігантських клітин у більш ранні строки.

Результати наших досліджень клітинно-тканинного і клітинного складу вогнища запалення в динаміці вторинно ХЗ показують, що застосування МСК призводить до зменшення хронізації процесу. Це доводить доцільність використання МСК для профілактики ХЗ.

При запаленні, на тлі застосування МСК, в порівнянні з природним перебігом запального процесу ЗКК достовірно вище на 1-шу добу в 1,8 рази, $p < 0,01$ і достовірно нижче на 14-ту добу (2,6 разів, $p < 0,001$, $p < 0,05$) (рис 4.10).



Рис 4.10. Загальна кількість мієлокаріоцитів у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

Таким чином, при запаленні, викликаному застосуванням МСК, ЗКК в ранні терміни дещо вище, а в більш пізні терміни - достовірно нижча, ніж при природньому перебігу запалення.

При запаленні на тлі застосування МСК, в порівнянні з природним плином запалення, зареєстроване значне перевищення числа БК на 10-ту добу в 3,9 разів, $p < 0,05$, достовірно нижче на 7-му добу (в 1,6 разів, $p < 0,05$) і спостерігалось падіння кількості БК до 14-ої доби (рис. 4.11).

Спостерігається також тенденція підвищення кількості БК на 2-гу - 3-тю і 10-ту доби.



Рис 4.11. Загальна кількість бластних клітин у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

При запаленні на тлі застосування МСК, в порівнянні з природним плином запалення, спостерігається достовірне збільшення кількості нейтрофілів на 6-ту годину і 10-ту добу (відповідно в 1,2 рази, $p < 0,05$ і в 5,3 рази, $p < 0,05$). Звертає увагу виражене зниження незрілих нейтрофілів на 7-му та 21-шу добу (відповідно в 2,38 разів, $p < 0,05$ і в 2,9 разів, $p < 0,01$). Відбувається зсув піка з 21-ої доби на 6-ту годину, що також як і по відношенню до БК, відображає більш ранню активацію гемопоезу (рис 4.12).

Відсутність достовірності збільшення на 14-ту добу, ймовірно, пов'язано з активним виходом нейтрофілів в периферичну кров з депо з 7-ої по 28-му доби.

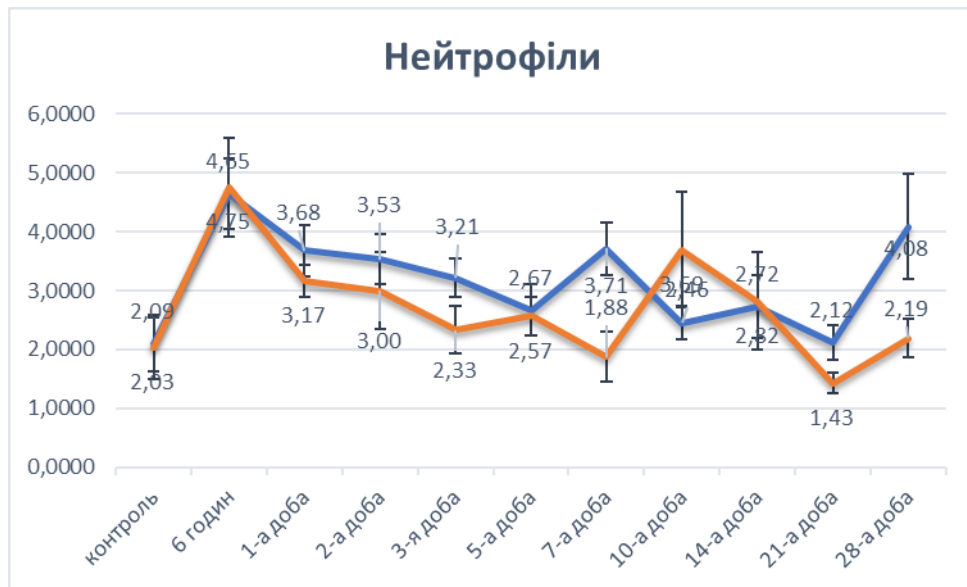


Рис 4.12. Загальна кількість нейтрофілів у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

При запаленні на тлі застосування МСК в порівнянні з природним плином запалення вміст еозинофілів достовірно менше на 7-му і 21-шу доби (відповідно в 1,3 рази, $p < 0,05$ і в 1,4 рази, $p < 0,001$), але достовірно вище на 14-ту добу в 9,1 разів, $p < 0,05$. Це пов'язано з тим, що більше еозинофілів виходить в кров на 7-му і 21-шу добу, більшою активацією гемопоезу на 14-ту добу в зв'язку з гіперплазією кісткового мозку, ніж при природньому перебігу процесу. Зниження вмісту еозинофілів в кістковому мозку на 21-шу - 28-му добу, тобто в період хронізації запалення, пов'язано з меншою його хронізацією (рис 4.13).

При природньому перебігу запалення в порівнянні з запаленням на тлі застосування МСК, уваги заслуговує процес виходу еозинофілів з депо в периферію, який переважає їхню продукцією, особливо на 1-шу, 7-му і 14-ту доби. Посилений вихід еозинофілів в кров в ці терміни запалення відображає їх міграцію в осередок в гострий період запалення, а на 21-шу і 28-му доби – хронізації запалення, ймовірно, у зв'язку з тим, що еозинофіли виявляються в великій кількості в крові і вогнищі гранулематозного запалення.

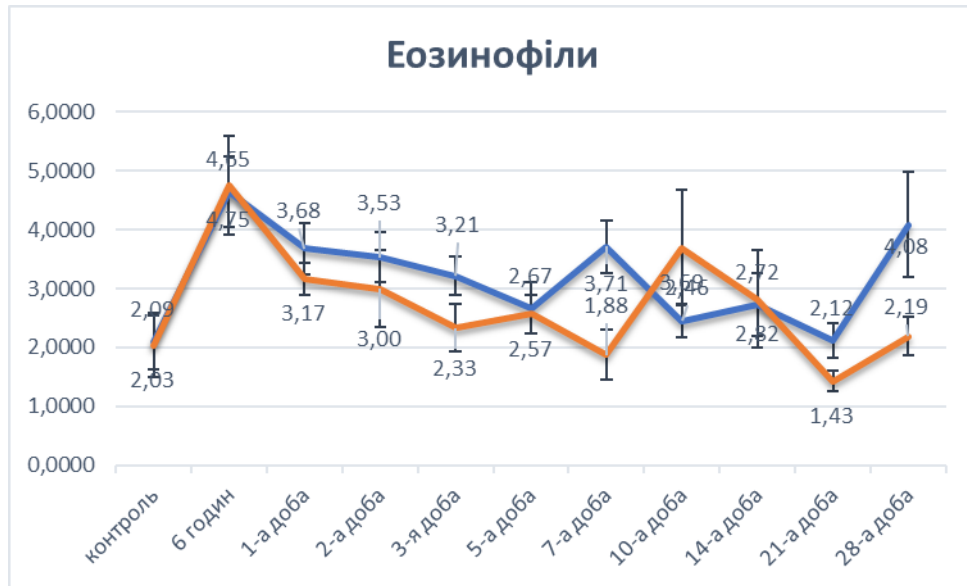


Рис 4.13. Загальна кількість еозинофілів у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

При запаленні на тлі застосування МСК в порівнянні з природним його плином вміст моноцитів достовірно більше на 10-ту добу і менше на 5-ту добу (відповідно в 4,4 рази, $p < 0,001$ і в 2,1 раз, $p < 0,001$) (рис. 4.14).

Таким чином, при запаленні на тлі застосування МСК в порівнянні з природним плином запалення, відмічається більш виражена активація моноцитопоезу в ранні терміни в порівнянні з пізніми. Це свідчить про зниження хронізації запалення

Зменшення вмісту моноцитів на 7-му і 21-шу доби пов'язано з посиленням їх виходом з кісткового мозку в периферичну кров і в подальшому в осередок запалення.

При запаленні на тлі застосування МСК в порівнянні з природним його плином вміст лімфоцитів достовірно вище на 1-шу, 3-тю і 14-ту доби (відповідно в 1,93 рази, $p < 0,05$, в 1,33 рази, $p < 0,05$ і в 4,4 рази, $p < 0,05$) і нижче на 2-гу та 21-шу доби (відповідно в 2,1 рази, $p < 0,001$, в 3,3 рази, $p < 0,05$).

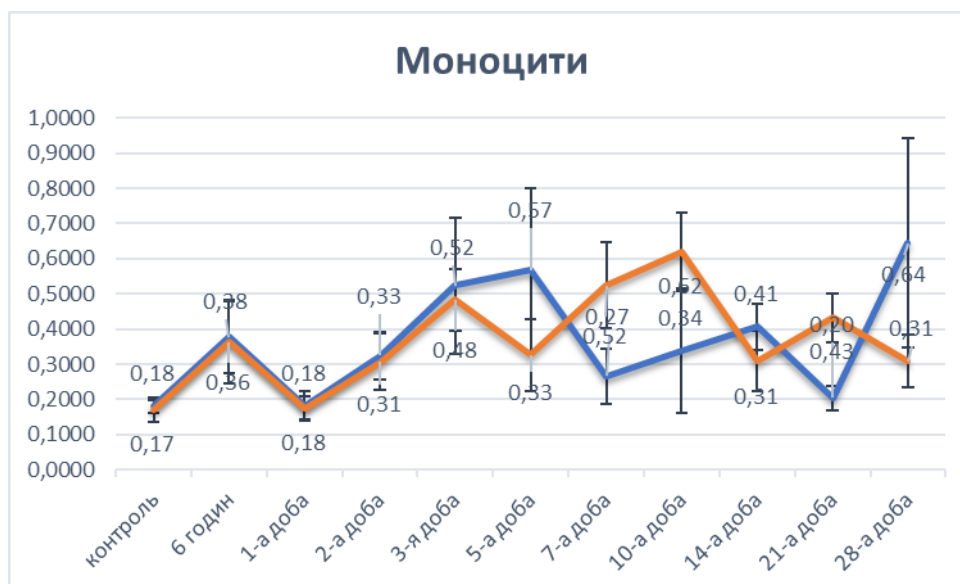


Рис 4.14. Загальна кількість моноцитів у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

Результати свідчать, що активація лімфопоезу в даному випадку більше, ніж при природньому перебігу запалення, а в період хронізації процесу - менше, що свідчить про зменшення хронізації (рис 4.15).



Рис 4.15. Загальна кількість лімфоцитів у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

При запаленні на тлі застосування МСК в порівнянні з природним його плином зміст еритроїдних клітин достовірно більше з 6-ої години до 14-ої доби (відповідно в 3,4 рази на 6-ту годину, $p < 0,01$, в 2,7 рази на 14-ту добу, $p < 0,05$) і достовірно менше на 21-шу добу (в 1,5 рази, $p < 0,05$), що свідчить про більшу активацію гемопоезу в порівнянні з природним плином запалення (рис 4.16).



Рис 4.16. Загальна кількість еритроїдних клітин у кістковому мозку в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

Аналізуючи лейкоцитарну реакцію периферичної крові (рис. 4.17), ми відмічаємо, що рівень лейкоцитів при запальному процесі на фоні введення МСК нижчий протягом майже всього дослідження, виняток становили лише 5-ту та 10-ту добу. Ймовірно, що МСК таким чином виявляють свої протизапальні та імуномодулюючі здібності.

Кількість паличкоядерних нейтрофілів під час запалення на тлі введення МСК була вищою майже протягом усього дослідження в порівнянні

з їх вмістом за природнього перебігу запалення з піком на 14-ту добу (рис. 4.18).



Рис 4.17. Загальна кількість лейкоцитів в периферичній крові в динаміці карагіненового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).



Рис 4.18. Число паличкоядерних нейтрофілів в периферичній крові в динаміці карагіненового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

Такі дані можуть свідчити про те, що реактивна здатність неспецифічної імунної реакції зростала у відповідь на запальний процес у групі запалення на тлі застосування МСК.

При вивченні ЛМС у щурів ми виявили позитивну динаміку зі збільшенням терміну дослідження. На 21-шу і 28-му доби показник ЛМС був значно вищим у групі тварин із хронічним запаленням на тлі введення МСК в порівнянні з природнім перебігом запалення, що свідчить про протекторний вплив МСК при ХЗ (рис. 4.23) [180, 181].

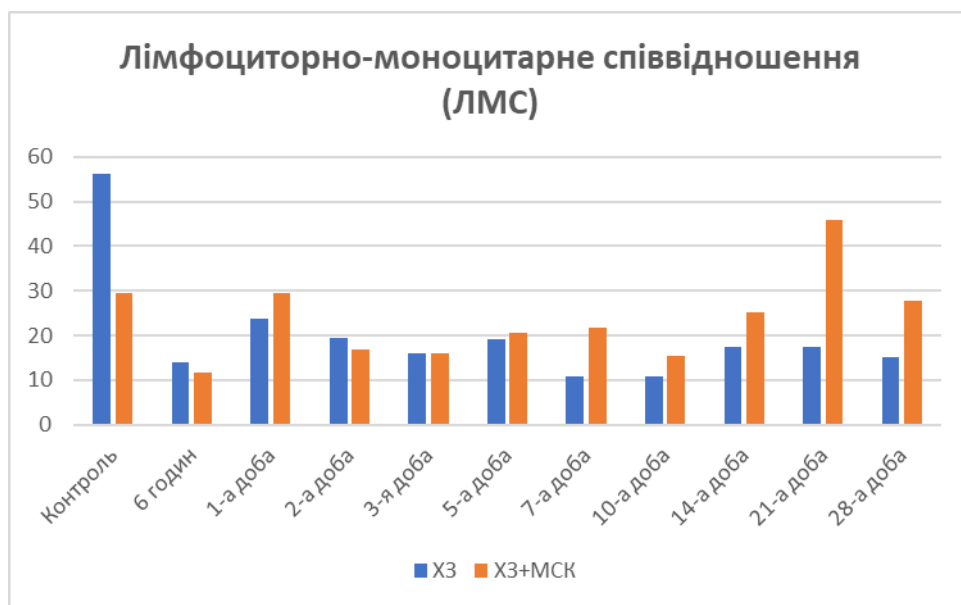


Рис 4.19. Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення в динаміці карагієнового вторинно хронічного запалення у щурів за природнього перебігу запалення (блакитна лінія) і на тлі введення МСК (червона лінія).

Рівень TNF- α був значно нижчим для запалення на тлі застосування МСК у порівнянні зі звичайним перебігом запалення в той же термін.

Крім того, TNF- α був значно нижчим при запаленні та тлі МСК між 14-ою та 28-ою добами порівняно з контролем та контролем та тлі МСК без викликання запалення. Більше того, крива запалення з групами МСК є більш рівною, ніж крива групи природнього перебігу запалення.

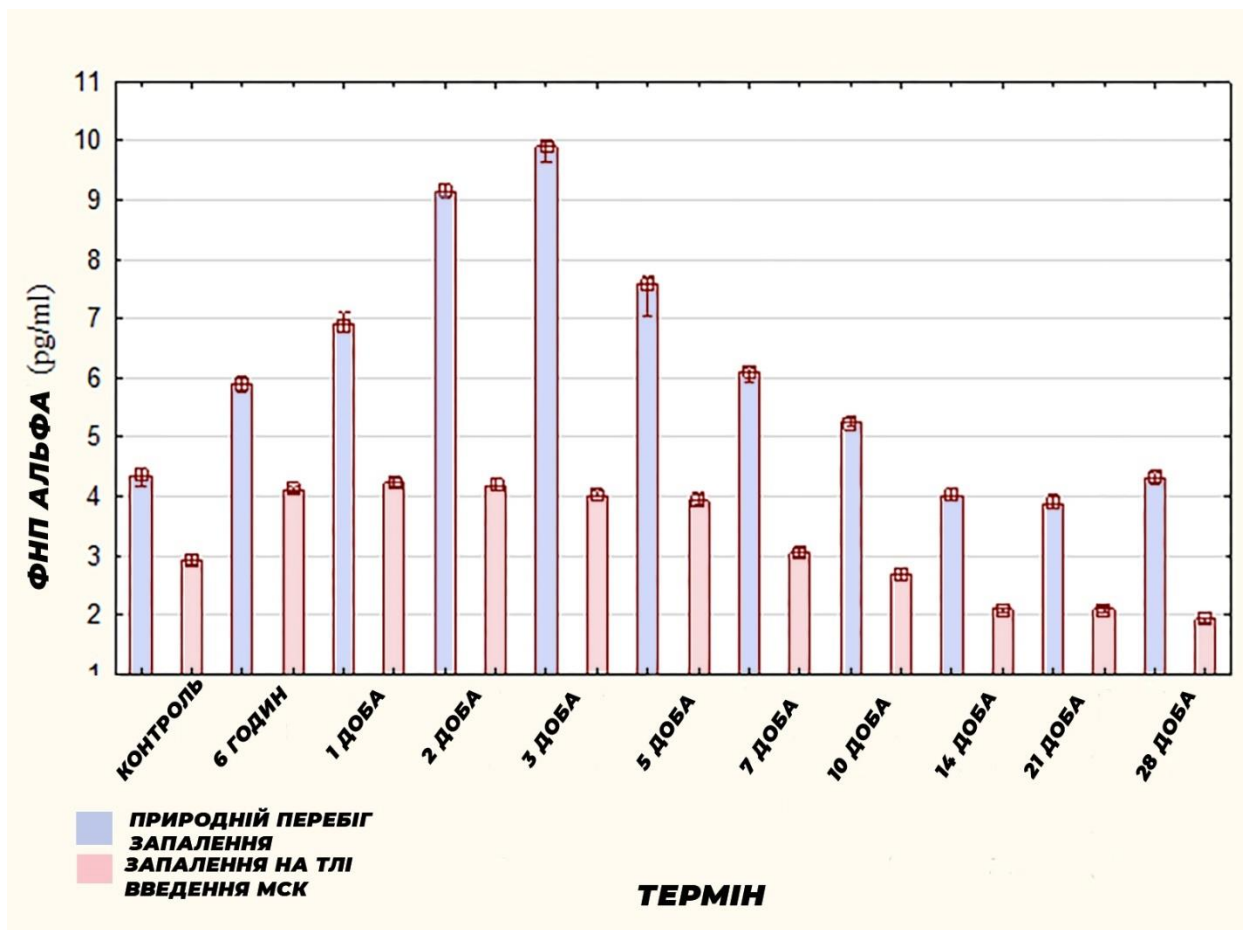


Рис. 4.20. Концентрація TNF- α для груп із природнім перебігом запалення та запаленням на тлі застосування МСК.

Згідно з нашим статистичним аналізом ми отримали хвилеподібну криву перебігу запалення у групах запалення з застосуванням МСК із тенденцією до зниження. Але головною особливістю є різке зниження ІЛ-6 для групи запалення плюс МСК порівняно із звичайним перебігом запалення в той самий термін ($P = 0,0$).

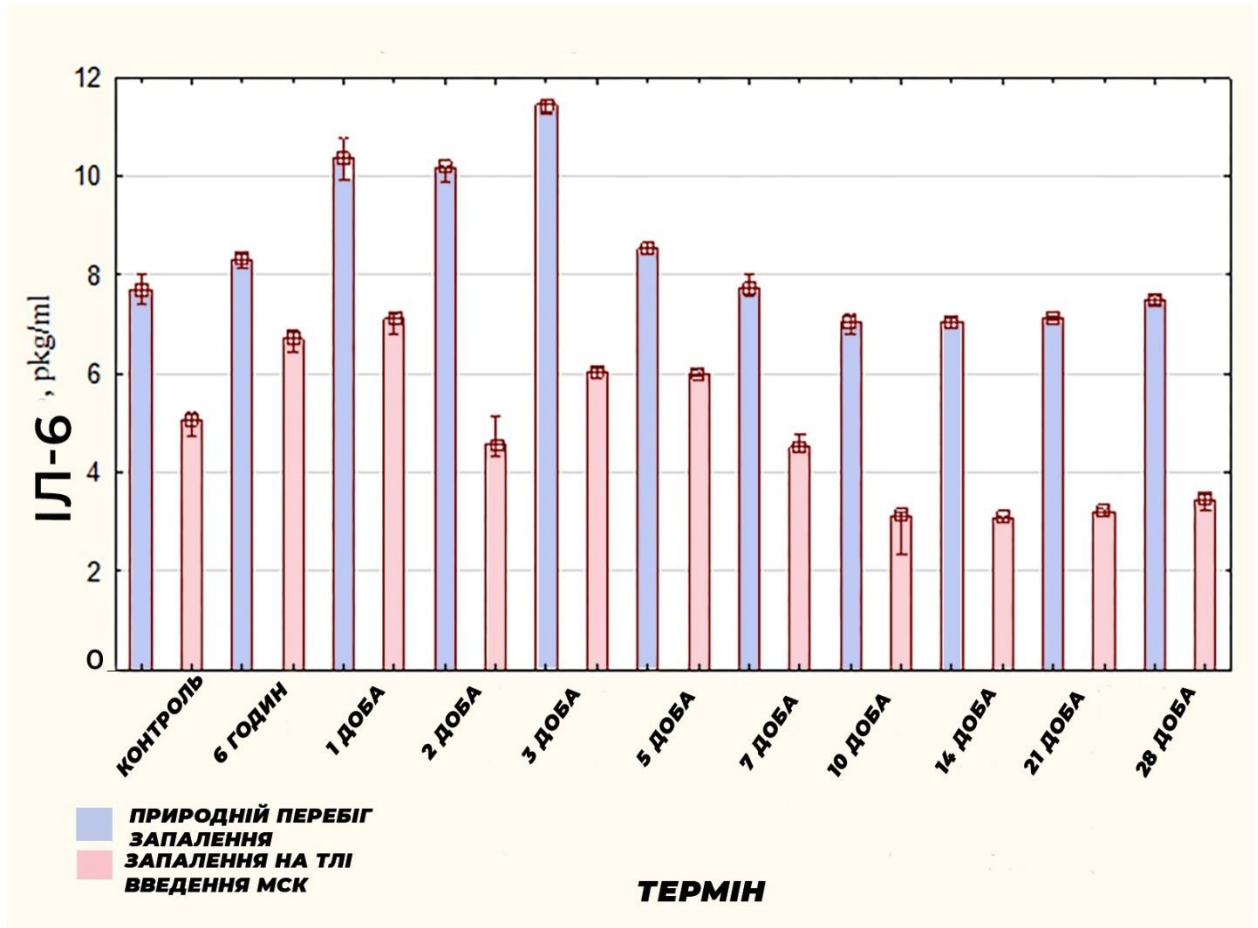


Рис. 4.21. Концентрація ІЛ-6 для груп із природнім перебігом запалення та запаленням на тлі застосування МСК.

Вимірювання СРБ показало, що група запалення плюс МСК має суттєво нижчі рівні цього білка в плазмі на відміну від природнього перебігу запалення з 1-ої доби до кінця експерименту ($P = 0,0$) (рис. 4.26) [182]. Крім того, спостерігалось незначне зниження рівня СРБ у групах запалення на тлі застосування МСК між 6-ою годиною та 2-ою добою із зниженням на 5-ту добу порівняно з природнім перебігом ХЗ. З 7-ої доби і до кінця експерименту спостерігалось більш виражене зниження показників кривої у групах запалення на тлі застосування МСК.

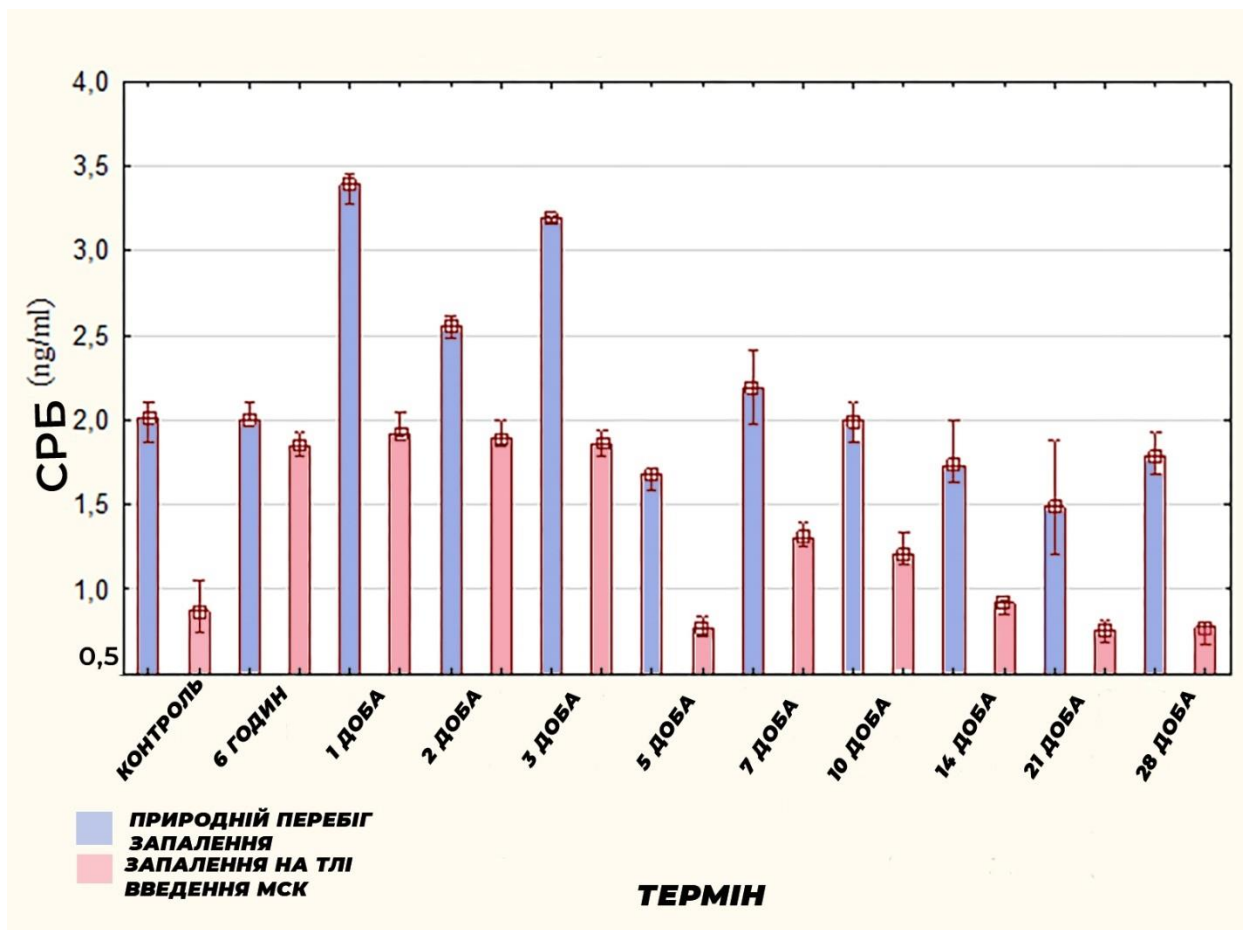


Рис. 4.22. Концентрація СРБ для груп із природнім перебігом запалення та запаленням на тлі застосування МСК.

Крім того, ми помітили однакові тенденції для всіх 3-х графіків. Рівні TNF- α , IL-6, СРБ були значно нижчими для групи запалення плюс МСК порівняно із звичайним перебігом запалення в той же термін ($P = 0,0$). Більше того, рівень маркерів запалення був помітно вищим у інтактній контрольній групі порівняно з групою контролю з МСК без викликання запалення.

Загальновідомо, що багато хронічних запальних станів супроводжуються підвищеним рівнем прозапальних цитокінів [183]. Існує кілька терапевтичних варіантів зниження їх рівня. Серед них моноклональні антитіла та блокатори рецепторів цитокінів, імунодепресанти та нестероїдні протизапальні препарати. Жоден з цих ліків не є абсолютно безпечним та ефективним. Тому все ще існує потреба у розробці нових підходів, які можуть бути спрямовані на інші патогенетичні механізми.

Одним з таких підходів може бути використання МСК для впливу на вироблення прозапальних цитокінів у зоні запалення або пошкодження тканин. Загальновідомо, що МСК можуть взаємодіяти з імунними клітинами як вродженої, так і адаптивної імунної системи. Ця взаємодія опосередковується секрецією численних біологічно активних сполук, таких як цитокіни, хемокіни та фактори росту.

Основною метою при вивченні маркерів ХЗ була оцінка змін у профілі запальних цитокінів протягом хронічного карагіненового запалення. Згідно з нашим дослідженням, використання МСК, отриманих з кісткового мозку, у вогнищі ХЗ призвело до значного зменшення прозапальних цитокінів, таких як IL-6, TNF α та СРБ, у плазмі тварин групи запалення на тлі застосування МСК. Це зниження було статистично значущим у порівнянні з природнім перебігом ХЗ. Результати можна пояснити з урахуванням імунодепресивних властивостей МСК. МСК можуть взаємодіяти з багатьма типами імунних клітин, включаючи В-клітини, Т-клітини, дендритні клітини (ДК), клітини природних кілерів (НК), нейтрофіли та макрофаги [184]. Було показано, що механізми взаємодії засновані на міжклітинному контакті, працюючи у взаємодії з секрецією розчинних імунних факторів, щоб викликати регульовану МСК імуносупресію [185]. Ці специфічні модулятори, включаючи безліч імуномодулюючих факторів, цитокінів та факторів росту, модулюють запальні реакції та врівноважують імунні профілі. МСК також можуть регулювати запальний процес та відновлювати пошкоджені клітини та тканини, прикріплюючись до місць запалення [186]. Інтеграція МСК із запальними процесами може як посилювати, так і гальмувати імунну відповідь і залежить від загального стану імунної системи [187]. Цікаво, що МСК модулюють імунодепресію лише тоді, коли вони спочатку стимулюються запальними цитокінами, такими як IL-1 та TNF α [188]. МСК не тільки реагують на запальні цитокіни, але також виробляють імуnoreгуляторні секретори, які опосередковують процес запалення [189,190].

Важливо зазначити, що, незважаючи на використання алогенних МСК, отриманих з кісткового мозку, спостерігалось значне зниження ІЛ-6, TNF- α та СРБ у плазмі тварин контрольної групи з МСК без викликання запалення порівняно з контрольною групою. Це можна пояснити імуномодулюючою здатністю МСК [191]. Таке суттєве зниження прозапальних цитокінів може бути свідченням неімуногенних властивостей алогенних МСК. Цей факт може бути важливим у таких випадках, коли забір аутологічних МСК неможливий.

Незважаючи на те, що розуміння механізмів імуномодуляції МСК залишається неповним, зростаюча кількість доказів є переконливою для проведення подальших досліджень властивостей МСК та їх застосування на практиці [192-196]. Це може допомогти у розробці патогенетичних методів лікування хронічних запальних та аутоімуних захворювань, які не матимуть побічних ефектів, таких як ті, що пов'язані з нестероїдними протизапальними препаратами, імунодепресантами та моноклональними антитілами проти запальних цитокінів.

ВИСНОВКИ

У дисертації представлено теоретичне узагальнення і вирішення актуального наукового медичного завдання – патогенетичного обґрунтування використання МСК для профілактики ХЗ. На моделі вторинно ХЗ показано, що, за даними основного параметра запалення – реакцій системи крові, застосування МСК значно зменшує хронізацію запалення.

1. При запалення на тлі введення МСК спостерігається протизапальний та імуномодулюючий вплив МСК. Він проявляється з боку різних складових клітинно-тканинної реакції вогнища запалення: лейкоцитарної інфільтрації, проліферації сполучно-тканинних елементів. Спостерігається інфільтрація запальної тканини лейкоцитами в ранні терміни запалення (до 5-ої доби), яка посилює ефективність елімінації флогогену і супроводжується зниженням подальшої інфільтрації та скорочує термін перебігу запалення. Застосування МСК стимулює накопичення тканинних базофілів, макрофагів, фібробластів у початкові терміни запалення, що сприяє більш вираженій репарації у гострий період запалення і зниженню розвитку сполучної тканини у період хронізації процесу.

2. На тлі використання МСК в порівнянні з природним перебігом запалення в клітинному складі центру вогнища запалення спостерігається значне зниження кількості нейтрофілів починаючи з 3-ої доби (в 2,3 рази, $p < 0,01$) до завершення експерименту. Вміст моноцитів суттєво вищий з 21-ої доби (в 4,5 рази, $p < 0,001$) до кінця експерименту, а також підвищується рівень макрофагів на 28-му добу (в 2,5 рази, $p < 0,01$) в порівнянні з природним перебігом запалення. В клітинному складі периферії вогнища запалення спостерігається значне зниження кількості нейтрофілів на 21-шу добу (в 1,9 рази, $p < 0,05$), а вміст макрофагів підвищується на 28-му добу (в 1,5 рази, $p < 0,05$) в порівнянні з природним перебігом запалення, що свідчить про зменшення хронізації запалення на тлі введення МСК.

3. Під час запалення під впливом МСК в порівнянні з природним перебігом процесу, ЗКК достовірно вища на 6-ту годину (у 2,1 раза, $p < 0,01$) і достовірно нижча на 5-ту і 21-шу доби (відповідно в 2,4 раза, $p < 0,001$, і в 1,41 раза, $p < 0,05$). Спостерігається достовірне збільшення кількості незрілих нейтрофілів на 6-ту годину і 14-ту добу (відповідно в 1,6 раза, $p < 0,05$, та в 2,2 раза, $p < 0,05$). Достовірне зниження кількості незрілих нейтрофілів - на 1-шу та 5-ту доби (відповідно в 2,4 раза, $p < 0,05$ та в 2,2 раза, $p < 0,01$). Вміст моноцитів достовірно більший на 14-ту добу і менший на 5-ту добу (відповідно в 2,3 раза, $p < 0,001$, та в 2,13 раза, $p < 0,001$), лімфоцитів достовірно вищий на 6-ту годину, 2-гу і 14-ту доби (відповідно в 1,93 раза, $p < 0,05$, у 2,33 раза, $p < 0,05$ і в 1,53 раза, $p < 0,05$) і нижчий на 5-ту та 21-шу доби (відповідно у 2,2 раза, $p < 0,001$, у 1,3 раза, $p < 0,05$). Вміст лімфоцитів більший протягом перших 14-ти діб запалення і менший в більш пізні терміни, які відповідають періоду хронізації запалення. Активація лімфопоезу в даному випадку більша, ніж за природнього перебігу запалення, а в період хронізації процесу – менша, що свідчить про зменшення хронізації. Застосування МСК призводить до зниження хронізації запалення за рахунок більшої активації гемопоезу.

4. При відтворенні ХЗ на тлі використання МСК в порівнянні від природнього перебігу кількість лейкоцитів нижча протягом майже всього експерименту. Максимальна кількість лімфоцитів при природньому ХЗ запалення відмічалась на 28-му добу (достовірно вище в 2,6 рази $p < 0,01$), а при запалення на тлі введення МСК спостерігається зсув на 5-ту та 10-ту доби (відповідно, в 1,9 рази $p < 0,05$ та 2,8 рази $p < 0,01$), що сприяє більш ранньому закінченню запальної реакції. ЛМС достовірно вище з 3-ої доби до 28-ої доби на тлі використання МСК, ніж за природнього перебігу запалення, що свідчить про сприятливе завершення запальної реакції.

5. Запалення на тлі використання МСК протікає зі зниженням активності TNF- α в периферичній крові, рівень якого був значно нижчим при введенні МСК порівняно з природнім перебігом запалення протягом

усього експерименту, з суттєвим зниженням з 14-ої по 28-му доби (відповідно в 1,93 рази $p < 0,001$ та в 2,24 рази $p < 0,001$).

6. Запалення на тлі введення МСК здатне закінчуватися в більш ранні терміни, про що свідчить рівень концентрації ІЛ-6 в периферичній крові, які були значно нижчими при запаленні на тлі введення МСК порівняно з природнім перебігом запалення протягом усього експерименту, з суттєвим зниженням з 10-ої по 21-шу доби (відповідно в 2,38 рази $p < 0,001$ та в 2,23 рази $p < 0,001$).

7. Концентрація СРБ змінюється хвилеподібно з максимальним зниженням на 5-ту добу, а потім з 21-ої доби до завершення експерименту (відповідно в 2,1 рази $p < 0,001$ та 2 рази $p < 0,001$) на тлі застосування МСК. При звичайному перебігу запалення піки концентрації СРБ спостерігалися на 2-гу, 3-тю, і в подальші терміни експерименту с 7-ої по 28-му доби.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Отримані результати свідчать про можливість використання МСК для лікування і профілактики хронізації запалення.
2. ЛМС може розглядатися як самостійний маркер перебігу ХЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 1995 – 640 с.
2. Мечников И.И. Избранные биологические произведения. – М.: Медицина, 1950. – 641 с.
3. Давыдовский И.В. Общая патология человека. М.: Медицина, 1969. – 610 с.
4. Movat H.Z. The inflammatory reaction. – Amsterdam: Elsevier, 1985. – 365 p.
5. Сапрыкин В.П. Ключевой вопрос теории воспаления // Мед. журн. России. – 1998. – №1–2. – С. 12–21.
6. Stulberg D.L., Penrod M.A., Blatny R.A. Common bacterial skin infections // Am. Fam. Physician. – 2002. – Vol.66, № 1. – P.119–124.
7. Winthrop K.L., Abrams M., Yakrus M. et al. An outbreak of mycobacterial furunculosis associated with footbaths at a nail salon // N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol.346, № 18. – P.1366–1371.
8. Альперн Д.Е. Воспаление (Вопросы патогенеза). – М.: Медгиз, 1959. – 286 с.
9. Чернух А.М. Воспаление: Очерки патологии и экспериментальной терапии. – М.: Медицина, 1979. – 448 с.
10. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. – 276 с.
11. Клименко Н.А. Общие принципы противовоспалительной терапии // Харьк. мед. журн. – 1997. – №1. – С. 5–11.
12. Чертков И.Л., Дризе Н.И. Взлеты и падения клеточной гематологии за три четверти века // Гематол. и трансфузиол. – 2001. – Т. 46, №3. – С. 10–14.
13. Oliver Soehnlein, Sabine Steffens, Andrés Hidalgo, Christian Weber. 2017. Circadian Control of Inflammatory Processes in Atherosclerosis and Its

Complications Arteriosclerosis. Thrombosis, and Vascular Biology. 2017; 37:1022–1028.

14. J.D. Walston. 2017. The fire of chronic inflammation in older adults: etiologies, consequences, and treatments. *Innovation in Aging*, Volume 1, Issue suppl_1, 1 July 2017, Page 961, <https://doi.org/10.1093/geroni/igx004.3462>.

15. Bertrand Fougère, Eric Boulanger, Fati Nourhashémi, Sophie Guyonnet, Matteo Cesari. 2016. Chronic Inflammation: Accelerator of Biological Aging. *The Journals of Gerontology: Series A*, Volume 72, Issue 9, September 2017, Pages 1218–1225, <https://doi.org/10.1093/gerona/glw240>.

16. Caplan AI, Bruder SP. 2001. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *TRENDS in Molecular Medicine* Vol.7 No.6.

17. Szyska M¹, Na IK². 2016. Bone Marrow GvHD after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 2016 Mar 30;7:118. doi:10.3389/fimmu.2016.00118.

18. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, Lanino E, Sundberg B, Bernardo ME, Remberger M, Dini G, Egeler RM, Bacigalupo A, Fibbe W, Ringden O. 2008. *Lancet.* 10;371(9624):1579-86. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60690-X.

19. Griffin MD, Elliman SJ, Cahill E, English K, Ceredig R, Ritter T. 2013. Concise review: adult mesenchymal stromal cell therapy for inflammatory diseases: how well are we joining the dots? *Stem Cells.* (10):2033-41. doi: 10.1002/stem.1452.

20. Li-Tzu Wang, Chiao-Hsuan Ting, Men-Luh Yen, Ko-Jiunn Liu, Huey-Kang Sytwu, Kenneth K. Wu and B. Linju Yen. 2016. Human mesenchymal stem cells (MSCs) for treatment towards immune- and inflammation-mediated diseases: review of current clinical trials. *Journal of Biomedical Science* volume 23, Article number: 76

21. Joerg D. Hoeck, Brian Biehs, Antonina V. Kurtova, Noelyn M. Kljavin, Felipe de Sousa e Melo, Bruno Aliche, Hartmut Koeppen, Zora Modrusan, Robert

Piskol, Frederic J. de Sauvage. 2017. Stem cell plasticity enables hair regeneration following Lgr5+ cell loss. *Nature Cell Biology* volume 19, pages 666–676.

22. Andrea J.De Micheli, Emily J.Laurilliard, Charles L.Heinke, Hiranmayi Ravichandran, Paula Fraczek, SharonSoueid-Baumgarten, Iwijn De Vlaminck, Olivier Elemento, Benjamin D.Cosgrove. 2020. Single-Cell Analysis of the Muscle Stem Cell Hierarchy Identifies Heterotypic Communication Signals Involved in Skeletal Muscle Regeneration. *Cell reports*. Volume 30, Issue 10, Pages 3583-3595.e5.

23. Takehito Ouchi, Taneaki Nakagawa. 2020. Mesenchymal stem cell-based tissue regeneration therapies for periodontitis. *Regenerative Therapy*. Volume 14, Pages 72-78.

24. Feng Zhou, Amanda B. Reed-Maldonado, Yan Tan, Huixing Yuan, Dongyi Peng , Lia Banie, Guifang Wang, Jianquan Hou, Guiting Lin, and Tom F. Lue/ 2019. Development of Male External Urethral Sphincter and TissueResident Stem/Progenitor Cells in Rats. *Stem Cells and Development* Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/scd.2019.0241.

25. Stephen M.Richardson, Gauthaman Kalamegam, Peter N.Pushpara, Csaba Matta, Adnan Memic, Ali Khademhosseini, Reza Mobasheri, Fabian L.Poletti, Judith A.Hoyland, Ali Mobasheri. 2016. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Focus on articular cartilage and intervertebral disc regeneration. *Methods* Volume 99, 15 April 2016, Pages 69-80.

26. Rebekah M. Samsonraj, Michael Raghunath, Victor Nurcombe, James H. Hui, Andre j. Van Wijnen, Simon M. Cool. 2017. Concise Review: Multifaceted Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells for Use in Regenerative Medicine *STEM CELLS Translational Medicine* doi.org/10.1002/sctm.17-0129.

27. Somayeh Keshtkar, Negar Azarpira, Mohammad Hossein Ghahremani, 2018 Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Research & Therapy* 9, 63. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0791-7>.

28. Yao Fu, Lisanne Karbaat, Ling Wu, Jeroen Leijten, Sanne K. Both, Marcel Karperien. 2017. Trophic Effects of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews* Vol. 23, No. 6. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0365>.

29. Oryan A. Kamali A. · Moshiri A. Baghaban Eslaminejad M. 2017. Role of Mesenchymal Stem Cells in Bone Regenerative Medicine: What Is the Evidence? *Cell Tissue Organs* <https://doi.org/10.1159/000469704>.

30. Jun Guo, Guo-sheng Lin, Cui-yu Bao, Zhi-min Hu & Ming-yan Hu. 2007. Anti-Inflammation Role for Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Myocardial Infarction. *Inflammation* volume 30, pages 97–104. <https://doi.org/10.1007/s10753-007-9025-3>.

31. Ugnė Pivoraitė, Akvilė Jarmalavičiūtė, Virginijus Tunaitis, Giedrė Ramanauskaitė, Aida Vaitkuvienė, Vytautas Kašėta, Genė Biziulevičienė, Algirdas Venalis, Augustas Pivoriūnas. 2015. Exosomes from Human Dental Pulp Stem Cells Suppress Carrageenan-Induced Acute Inflammation in Mice. *Inflammation*. DOI: 10.1007/s10753-015-0173-6

32. Leitner DR, Frühbeck G, Yumuk V, et al. 2017. Obesity and Type 2 Diabetes: Two Diseases with a Need for Combined Treatment Strategies - EASO Can Lead the Way. *Obes Facts*.10(5):483–492. doi:10.1159/000480525

33. Boloker, Gabrielle et al. Updated statistics of lung and bronchus cancer in United States. 2018. *Journal of thoracic disease* vol. 10,3 (2018): 1158-1161. doi:10.21037/jtd.2018.03.15.

34. Sitarz, Robert et al. 2018. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer management and research* vol. 10 239-248. 7. doi:10.2147/CMAR.S149619.

35. Le Blanc K, Ringden O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11:321–334

36. Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, Liebergall M, Gazit Z, Aslan H, Galun E, Rachmilewitz J. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting

cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*. 2005;105:2214–2219

37. Dazzi F, Marelli-Berg F.M. Mesenchymal stem cells for graft-versus-host disease: close encounters with T cells. *Eur J Immunol*. 2008;38:1479–1482

38. Shi Y, Hu G, Su J, Li W, Chen Q, Shou P, Xu C, et al. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Res* 2010;20:510-518.

39. Leitner DR, Frühbeck G, Yumuk V, et al. 2017. Obesity and Type 2 Diabetes: Two Diseases with a Need for Combined Treatment Strategies - EASO Can Lead the Way. *Obes Facts*.10(5):483–492. doi:10.1159/000480525

40. Boloker, Gabrielle et al. Updated statistics of lung and bronchus cancer in United States. 2018. *Journal of thoracic disease* vol. 10,3 (2018): 1158-1161. doi:10.21037/jtd.2018.03.15.

41. Sitarz, Robert et al. 2018. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer management and research* vol. 10 239-248. 7. doi:10.2147/CMAR.S149619.

42. Chen, W.-W., Zhang, X., & Huang, W.-J. 2016. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, 13(4), 3391–3396. doi:10.3892/mmr.2016.4948

43. Nathan, C., & Ding, A. 2010. Nonresolving Inflammation. *Cell*, 140(6), 871–882. doi:10.1016/j.cell.2010.02.029

44. Li W, Ren G, Huang Y, Su J, Han Y, Li J, Chen X, et al. Mesenchymal stem cells: Hepatology Hepatology 26 a double-edged sword in regulating immune responses. *Cell Death Differ* 2012;19:1505-1513.

45. Zhang, Y., Cai, W., Huang, Q., Gu, Y., Shi, Y., Huang, J., ... Zhang, Y. (2013). Mesenchymal stem cells alleviate bacteria-induced liver injury in mice by inducing regulatory dendritic cells. *Hepatology*, 59(2), 671–682. doi:10.1002/hep.26670

46. Ng A, Tam WW, Zhang MW, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2018;8(1):12050. Published 2018 Aug 13.

doi:10.1038/s41598-018-30487-6

47. Marco Del G, Steven WG. Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain, Behavior, and Immunity*. Volume 70, May 2018, Pages 61-75. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.013>

48. Ming Guo, Minghui Hao, Yu Tang. Relationships among serum IL-6, TNF- α , CRP and coronary artery lesion in patients with acute myocardial infarction. *Int J Clin Exp Med* 2018;11(7):6987-6992.

49. Kong, D., Wang, H., Liu, Y., Li, H., Wang, H., & Zhu, P. (2018). Correlation between the expression of inflammatory cytokines IL-6, TNF- α and hs-CRP and unfavorable fetal outcomes in patients with pregnancy-induced hypertension. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16, 1982-1986. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6393>

50. Koelman, L., Pivovarova-Ramich, O., Pfeiffer, A.F.H. et al. Cytokines for evaluation of chronic inflammatory status in ageing research: reliability and phenotypic characterisation. *Immun Ageing* 16, 11 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12979-019-0151-1>

51. G. Majno *The Healing Hand - Man and wound in the ancient world* Harvard University Press, Cambridge, MA(1975)

52. G. Majno, I. Joris *Cells, Tissues, and Disease (Second Edition)*, Oxford University Press, Oxford (2004)

53. A.I. Tauber *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 4 (2003), pp. 897-901

54. E. Pecchi , M. Dallaporta , A. Jean , S. Thirion , JD Troadec *Physiol. Behav.*, 97 (2009) , стр. 279 – 292

55. Basbaum, A.I., Bautista, D.M., Scherrer, G., Julius, D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain (Review). *Cell* Volume 139, Issue 2, 16 October 2009, 267-284 p.

56. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):853-9. doi: 10.1038/nature01321. PMID: 12490958.

57. *Nature Immunology* Volume 6, Issue 12, December 2005, Pages 1191-1197 Resolution of inflammation: The beginning programs the end Serhan, C.N.,

Savill, J

58. V. Kumar, R.S.Cotran, S.L. RobbinsRobbins Basic Pathology (Seventh Edition), Saunders, New York (2003)

59. Hotamisligil, G. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860–867 (2006). <https://doi.org/10.1038/nature05485>

60. Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*. 2001 Oct 15;98(8):2396-402. doi: 10.1182/blood.v98.8.2396. PMID: 11588036.

61. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*. 2000 Aug 15;61(4):364-70. doi: 10.1002/1097-4547(20000815)61:4<364::AID-JNR2>3.0.CO;2-C. PMID: 10931522.

62. Мечников И.(1892). Борьба за существование частей животного организма. в помощь голодающим (Москва: Научно-литературный сборник), стр. 321–326

63. Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science*. 2004 Sep 17;305(5691):1733-6. doi: 10.1126/science.1095292. PMID: 15375258.J.W. Pollard *Nat. Rev. Immunol.*, 9 (2009), pp. 259-260

64. Yi Liu, Li Li, Ying Li, Xia Zhao, "Research Progress on Tumor-Associated Macrophages and Inflammation in Cervical Cancer", *BioMed Research International*, vol. 2020, Article ID 6842963, 6 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6842963>

65. C. Nathan, Points of Control in Inflammation. *Nature*, Vol. 420, No. 6917, 2002, pp. 846-852. doi:10.1038/nature01320

66. Espinosa-Riquer ZP, Segura-Villalobos D, Ramírez-Moreno IG, Pérez Rodríguez MJ, Lamas M, Gonzalez-Espinosa C. Signal Transduction Pathways Activated by Innate Immunity in Mast Cells: Translating Sensing of Changes into Specific Responses. *Cells*. 2020; 9(11):2411. <https://doi.org/10.3390/cells9112411>

67. Chen L, Deng H, Cui H, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017;9(6):7204-7218. Published 2017 Dec 14. doi:10.18632/oncotarget.23208
68. Hardy, R.S., Raza, K. & Cooper, M.S. Therapeutic glucocorticoids: mechanisms of actions in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* **16**, 133–144 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0371-y>
69. Haitham T. Idriss, James H. Naismith. TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). 2000. *Microsc. Res. Tech.* 50:184–195, 2000. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000801\)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000801)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H)
70. Swaminathan Sethu, Alirio J. Melendez. 2011. New developments on the TNF α -mediated signalling pathways. *Biosci Rep* 1-31 (1): 63–76. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20100040>
71. Al-Lamki RS, Wang J, Skepper JN, Thiru S, Pober JS, Bradley JR. 2001. Expression of tumor necrosis factor receptors in normal kidney and rejecting renal transplants. *Lab Invest*; 81(11):1503–1515.
72. Melania Manco, MD, PhD, Matilde Marcellini, MD, Germana Giannone, MD, Valerio Nobili, MD. 2007. Correlation of Serum TNF- α Levels and Histologic Liver Injury Scores in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 127, Issue 6, June 2007, Pages 954–960, <https://doi.org/10.1309/6VJ4DWGYDU0XYJ8Q>
73. Toshio Tanaka, Masashi Narazaki, Tadimitsu Kishimoto. 2014 IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* Oct; 6(10): a016295. doi: 10.1101/cshperspect.a016295
74. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. 1990. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* Feb 1; 265(3):621-36.
75. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018;9:754. Published 2018 Apr 13. doi:10.3389/fimmu.2018.00754
76. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006

Dec 14;444(7121):860-7. doi: 10.1038/nature05485. PMID: 17167474.

77. Seixas E, Gozzelino R, Chora A, Ferreira A, Silva G, Larsen R, Rebelo S, Penido C, Smith NR, Coutinho A, Soares MP. Heme oxygenase-1 affords protection against noncerebral forms of severe malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Sep 15;106(37):15837-42. doi: 10.1073/pnas.0903419106. Epub 2009 Aug 17. PMID: 19706490; PMCID: PMC2728109.

78. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells*. 2007 Nov;25(11):2739-49. doi: 10.1634/stemcells.2007-0197. Epub 2007 Jul 26. PMID: 17656645.

79. Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human origins. *Cell Stem Cell*. 2008;3(3):301–313

80. Caplan AI. All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell*. 2008;3(3):229–230

81. Da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci*. 2006;119(11):2204–2213

82. Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*. 2001 Oct 15;98(8):2396-402. doi: 10.1182/blood.v98.8.2396. PMID: 11588036.

83. Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*. 1997;276:71–74.

84. Friedenstein A.J. Stromal mechanisms of bone marrow: cloning in vitro and retransplantation in vivo. *HaematolBloodTransfus*. 1980;25:19–29

85. Bianco P, Robey P. G, Simmons P. J. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell*. 2008;2:313–319.

86. Caplan A.I. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol*. 2007;213:341–347

87. Kolf C, Cho E, Tuan R. Biology of adult mesenchymal stem cells:

regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Research and Therapy*. 2007;9

88. Le Blanc K, Ringden O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11:321–334

89. Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, Liebergall M, Gazit Z, Aslan H, Galun E, Rachmilewitz J. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*. 2005;105:2214–2219

90. Dazzi F, Marelli-Berg F.M. Mesenchymal stem cells for graft-versus-host disease: close encounters with T cells. *Eur J Immunol*. 2008;38:1479–1482

91. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur J Immunol* 2006; 36: 2566–2573.

92. Puissant B, Barreau C, Bourin P, Clavel C, Corre J, Bousquet C et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol* 2005; 129: 118–129

93. Selmani Z, Naji A, Zidi I, Favier B, Gaiffe E, Obert L et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ regulatory T cells. *Stem Cells* 2008; 26: 212–222

94. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006; 107: 367–372.

95. Burchell JT, Strickland DH, Stumbles PA. The role of dendritic cells and regulatory T cells in the regulation of allergic asthma. *Pharmacol Ther* 2010; 125: 1–10.

96. Ramasamy R, Fazekasova H, Lam EW, Soeiro I, Lombardi G, Dazzi F. Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle. *Transplantation* 2007; 83: 71–76

97. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M,

Uzunel M et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363: 1439–1441.

98. Rafei M, Campeau PM, Aguilar-Mahecha A, Buchanan M, Williams P, Birman E et al. Mesenchymal stromal cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting CD4 Th17 T cells in a CC chemokine ligand 2-dependent manner. *J Immunol* 2009; 182: 5994–6002

99. Crop MJ, Baan CC, Korevaar SS, Ijzermans JN, Pescatori M, Stubbs AP et al. Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2010; 162: 474–486.

100. Raicevic G, Najar M, Najimi M, El Taghdouini A, van Grunsven LA, Sokal E et al. Influence of inflammation on the immunological profile of adult-derived human liver mesenchymal stromal cells and stellate cells. *Cytherapy* 2015; 17: 174–185

101. Ren G, Zhao X, Zhang L, Zhang J, L'Huillier A, Ling W et al. Inflammatory cytokine-induced intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in mesenchymal stem cells are critical for immunosuppression. *J Immunol* 2010; 184: 2321–2328

102. Fu QL, Chow YY, Sun SJ, Zeng QX, Li HB, Shi JB et al. Mesenchymal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells modulate T-cell phenotypes in allergic rhinitis. *Allergy* 2012; 67: 1215–1222.

103. Krampera M, Cosmi L, Angeli R, Pasini A, Liotta F, Andreini A et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; 24: 386–398.

104. Ryan JM, Barry F, Murphy JM, Mahon BP. Interferon-gamma does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2007; 149: 353–363.

105. DelaRosa O, Lombardo E, Beraza A, Mancheno-Corvo P, Ramirez C, Menta R et al. Requirement of IFN-gamma-mediated indoleamine 2,3-dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-

derived stem cells. *Tissue Eng Part A* 2009; 15: 2795–2806.

106. Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts AI et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 141–150.

107. Jarvinen L, Badri L, Wettlaufer S, Ohtsuka T, Standiford TJ, Toews GB et al. Lung resident mesenchymal stem cells isolated from human lung allografts inhibit T cell proliferation via a soluble mediator. *J Immunol* 2008; 181: 4389–4396.

108. Ge W, Jiang J, Arp J, Liu W, Garcia B, Wang H. Regulatory T-cell generation and kidney allograft tolerance induced by mesenchymal stem cells associated with indoleamine 2,3-dioxygenase expression. *Transplantation* 2010; 90: 1312–1320.

109. Terness P, Bauer TM, Rose L, Dufter C, Watzlik A, Simon H et al. Inhibition of allogeneic T cell proliferation by indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells: mediation of suppression by tryptophan metabolites. *J Exp Med* 2002; 196: 447–457.

110. Mazzone A, Bronte V, Visintin A, Spitzer JH, Apolloni E, Serafini P et al. Myeloid suppressor lines inhibit T cell responses by an NO-dependent mechanism. *J Immunol* 2002; 168: 689–695

111. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nat Immunol* 2014; 15: 1009–1016.

112. Sato K, Ozaki K, Oh I, Meguro A, Hatanaka K, Nagai T et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood* 2007; 109: 228–234.

113. Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts AI et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 141–150.

114. Nemeth K, Keane-Myers A, Brown JM, Metcalfe DD, Gorham JD, Bundoc VG et al. Bone marrow stromal cells use TGF-beta to suppress allergic

responses in a mouse model of ragweed-induced asthma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 5652–5657.

115. Sioud M, Mobergslien A, Boudabous A, Floisand Y. Mesenchymal stem cell-mediated T cell suppression occurs through secreted galectins. *Int J Oncol* 2011; 38: 385–390.

116. Sioud M, Mobergslien A, Boudabous A, Floisand Y. Evidence for the involvement of galectin-3 in mesenchymal stem cell suppression of allogeneic T-cell proliferation. *Scand J Immunol* 2010; 71: 267–274.

117. Najar M, Raicevic G, Boufker HI, Fayyad-Kazan H, De Bruyn C, Meuleman N et al. Adipose-tissue-derived and Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal cells suppress lymphocyte responses by secreting leukemia inhibitory factor. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 3537–3546

118. Sheng H, Wang Y, Jin Y, Zhang Q, Zhang Y, Wang L et al. A critical role of IFN γ in priming MSC-mediated suppression of T cell proliferation through up-regulation of B7-H1. *Cell Res* 2008; 18: 846–857.

119. Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 2003; 101: 3722–3729

120. Han KH, Ro H, Hong JH, Lee EM, Cho B, Yeom HJ et al. Immunosuppressive mechanisms of embryonic stem cells and mesenchymal stem cells in alloimmune response. *Transplant Immunol* 2011; 25: 7–15.

121. Najar M, Raicevic G, Fayyad-Kazan H, De Bruyn C, Bron D, Toungouz M et al. Immune-related antigens, surface molecules and regulatory factors in human-derived mesenchymal stromal cells: the expression and impact of inflammatory priming. *Stem Cell Rev* 2012; 8: 1188–1198

122. English K, Ryan JM, Tobin L, Murphy MJ, Barry FP, Mahon BP. Cell contact, prostaglandin E(2) and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4+CD25(High) forkhead box P3+ regulatory T cells. *Clin Exp Immunol* 2009; 156: 149–160.

123. 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: 3770–3779.

124. Lee SH, Jang AS, Kwon JH, Park SK, Won JH, Park CS. Mesenchymal stem cell transfer suppresses airway remodeling in a toluene diisocyanate-induced murine asthma model. *Allergy Asthma Immunol Res* 2011; 3: 205–211

125. Firinci F, Karaman M, Baran Y, Bagriyanik A, Ayyildiz ZA, Kiray M et al. Mesenchymal stem cells ameliorate the histopathological changes in a murine model of chronic asthma. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 1120–1126

126. Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol* 2009; 183: 7787–7798.

127. Bessout R, Semont A, Demarquay C, Charcosset A, Benderitter M, Mathieu N. Mesenchymal stem cell therapy induces glucocorticoid synthesis in colonic mucosa and suppresses radiation-activated T cells: new insights into MSC immunomodulation. *Mucosal Immunol* 2014; 7: 656–669

128. Xiao J, Zhang C, Zhang Y, Zhang X, Zhao J, Liang J et al. Transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells into a murine model of passive chronic immune thrombocytopenia. *Transfusion* 2012; 52: 2551–2558.

129. Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005; 106: 1755–1761.

130. Zhou B, Yuan J, Zhou Y, Ghawji M Jr, Deng YP, Lee AJ et al. Administering human adipose-derived mesenchymal stem cells to prevent and treat experimental arthritis. *Clin Immunol* 2011; 141: 328–337.

131. Gonzalez MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, Buscher D, Delgado M. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 1006–1019

132. Liu Y, Mu R, Wang S, Long L, Liu X, Li R et al. Therapeutic potential of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of rheumatoid

arthritis. *Arthritis Res Ther* 2010; 12: R210.

133. Oh DY, Cui P, Hosseini H, Mosse J, Toh BH, Chan J. Potently immunosuppressive 5-fluorouracil-resistant mesenchymal stromal cells completely remit an experimental autoimmune disease. *J Immunol* 2012; 188: 2207–2217.

134. Morando S, Vigo T, Esposito M, Casazza S, Novi G, Principato MC et al. The therapeutic effect of mesenchymal stem cell transplantation in experimental autoimmune encephalomyelitis is mediated by peripheral and central mechanisms. *Stem Cell Res Ther* 2012; 3: 3

135. Liu XJ, Zhang JF, Sun B, Peng HS, Kong QF, Bai SS et al. Reciprocal effect of mesenchymal stem cell on experimental autoimmune encephalomyelitis is mediated by transforming growth factor-beta and interleukin-6. *Clin Exp Immunol* 2009; 158: 37–44

136. Sun L, Akiyama K, Zhang H, Yamaza T, Hou Y, Zhao S et al. Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans. *Stem Cells* 2009; 27: 1421–1432

137. Chang JW, Hung SP, Wu HH, Wu WM, Yang AH, Tsai HL et al. Therapeutic effects of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation in experimental lupus nephritis. *Cell Transplant* 2011; 20: 245–257.

138. Gu Z, Akiyama K, Ma X, Zhang H, Feng X, Yao G et al. Transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells alleviates lupus nephritis in MRL/lpr mice. *Lupus* 2010; 19: 1502–1514.

139. Choi EW, Shin IS, Lee HW, Park SY, Park JH, Nam MH et al. Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis. *J Gene Med* 2011; 13: 3–16

140. Yu J, Zheng C, Ren X, Li J, Liu M, Zhang L et al. Intravenous administration of bone marrow mesenchymal stem cells benefits experimental autoimmune myasthenia gravis mice through an immunomodulatory action. *Scand J Immunol* 2010; 72: 242–249.

141. Zhou Y, Yuan J, Zhou B, Lee AJ, Lee AJ, Ghawji M Jr et al. The

therapeutic efficacy of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on experimental autoimmune hearing loss in mice. *Immunology* 2011; 133: 133–140.

142. Wang D, Zhang H, Liang J, Gu Z, Ma X, Huang J et al. Effect of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation in a polyI:C-induced primary biliary cirrhosis mouse model. *Clin Exp Med* 2011; 11: 25–32.

143. Xiao J, Zhang C, Zhang Y, Zhang X, Zhao J, Liang J et al. Transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells into a murine model of passive chronic immune thrombocytopenia. *Transfusion* 2012; 52: 2551–2558.

144. Yang H, Apreccio RM, Zhou X, Wang Q, Zhang W, Ding Y et al. Therapeutic effect of TSG-6 engineered iPSC-derived MSCs on experimental periodontitis in rats: a pilot study. *PLoS One* 2014; 9: e100285.

145. Cheng PP, Liu XC, Ma PF, Gao C, Li JL, Lin YY et al. iPSC-MSCs combined with low-dose rapamycin induced islet allograft tolerance through suppressing Th1 and enhancing regulatory T-cell differentiation. *Stem Cells Dev* 2015; 24: 1793–1804

146. Zhang Y, Liao S, Yang M, Liang X, Poon MW, Wong CY et al. Improved cell survival and paracrine capacity of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells promote therapeutic potential for pulmonary arterial hypertension. *Cell Transplant* 2012; 21: 2225–2239

147. Sun YQ, Zhang Y, Li X, Deng MX, Gao WX, Yao Y et al. Insensitivity of human iPSC-derived mesenchymal stem cells to interferon-gamma-induced HLA expression potentiates repair efficiency of hind limb ischemia in immune humanized NOD SCID gamma mice. *Stem Cells* 2015; e-pub ahead of print 14 July 2015; doi:10.1002/stem.2094.

148. Sproston NR, Ashworth JJ. 2018. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018;9:754. Apr 13. doi:10.3389/fimmu.2018.00754

149. Balta S, Demirer Z, Aparci M, et al. 2015. The lymphocyte-monocyte ratio in clinical practice. *J Clin Pathol.* <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2015->

203233.

150. Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*. 2014;505(7483):327–334. doi:10.1038/nature12984.

151. Susanne Kern, Hermann Eichler, Johannes Stoeve, Harald Klüter, Karen Bieback. 2012. Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. *Stem Cells* 24(5):1294-301.

152. Baldev R. Gulati, Rajesh Kumar, Niharika Mohanty, Pawan Kuma, Rajesh K. Somasundaram, Prem S. Yadav. 2013. Bone Morphogenetic Protein-12 Induces Tenogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Derived from Equine Amniotic Fluid. *Cells Tissues Organs* 2013;198:377–389 DOI: 10.1159/000358231.

153. Baldev R. Gulati, Rajesh Kumar, Niharika Mohanty, Pawan Kuma, Rajesh K. Somasundaram, Prem S. Yadav. 2013. Bone Morphogenetic Protein-12 Induces Tenogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Derived from Equine Amniotic Fluid. *Cells Tissues Organs* 2013;198:377–389 DOI: 10.1159/000358231.

154. Kassis I, Zangi L, Rivkin R, Levdansky L, Samuel S, Marx G, Gorodetsky R. 2006. Isolation of mesenchymal stem cells from G-CSF-mobilized human peripheral blood using fibrin microbeads. *Bone Marrow Transplant*. 2006 May;37(10):967-76. PMID: 16670702 DOI: 10.1038/sj.bmt.1705358.

155. K. Uchida, K. Urabe, K. Naruse, M. Ujihira, K. Mabuchi, and M. Itoman. 2007. Comparison of the cytokine-induced migratory response between primary and subcultured populations of rat mesenchymal bone marrow cells. *J Orthop Sci* 12:484–492 DOI 10.1007/s00776-007-1159-5.

156. Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, Baxevanis CN, Papamichail M. 2006. Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2006 Feb;24(2):462-71. DOI: 10.1634/stemcells.2004-0331.

157. NA Klimenko, SV Tatarko, AN Shevchenko, GI Gubina-Vakulik.

2007. Justification of the model of chronic (secondary chronic) inflammation. Eksperim. I clinich. medicine. No. 2. p. 24-28.

158. J. Necas, L. Bartosikova. 2013. Carrageenan: a review. Veterinarni Medicina, 58, (4): 187–205.

159. Jill C. Fehrenbacher, Michael R. Vasko, Djane B. Duarte. 2012. Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant-Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. Curr Protoc Pharmacol. 2012 Mar; 0 5: Unit5.4. doi: 10.1002/0471141755.ph0504s56

160. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях з використанням Excel. – К. : МОПІОН, 2001. – 408 с., с. 144-155.

161. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368

162. Меркулов Г.А.. Курс патогистологической техники. – Ленинград: Медгиз, 1961. – 340

163. Kolobovnikova U. The Fiches of Functional Activity Eosinophilic Granulocytes in Blood with Lung Tuberculosis / Kolobovnikova U, Ukazova O. Ukazova V, Novitskiy V. // Bulletin Sibirskoy Mediciny. – 2014. – I. 13. – № 5. – P. 42-48.

164. Дыгай АМ, Клименко НА. Воспаление и гемопоэз. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. 275 с.

165. Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in Inflammatory Disease. Int J Mol Sci. 2019;20(23):6008. Published 2019 Nov 28. doi:10.3390/ijms20236008

166. Jaffer U, Wade RG, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review. HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth. 2010;2(3):161-175.

167. Дыгай АМ. Теория регуляции кроветворения. Бюл. сиб. медицины. 2004;(4):5-17.

168. Клименко НА, Шевченко АН. Гематологические механизмы хронизации воспаления. –Харьков: ХНМУ; 2010. 88 с.

169. Ingersoll MA, Platt AM, Potteaux S, Randolph GJ. Monocyte trafficking in acute and chronic inflammation. *Trends Immunol.* 2011 Oct;32(10):470-7. doi: 10.1016/j.it.2011.05.001.

170. Roy S, Bagchi D, Raychaudhuri SP, editors. *Chronic inflammation: molecular pathophysiology, nutritional and therapeutic Interventions.* Boca Raton: CRC Press; 2012. 472 p.

171. Kassis I, Zangi L, Rivkin R, Levdansky L, Samuel S, Marx G, Gorodetsky R. 2006. Isolation of mesenchymal stem cells from G-CSF-mobilized human peripheral blood using fibrin microbeads. *Bone Marrow Transplant.* 2006 May;37(10):967-76. PMID: 16670702 DOI: 10.1038/sj.bmt.1705358.

172. K. Uchida, K. Urabe, K. Naruse, M. Ujihira, K. Mabuchi, and M. Itoman. 2007. Comparison of the cytokine-induced migratory response between primary and subcultured populations of rat mesenchymal bone marrow cells. *J Orthop Sci* 12:484–492 DOI 10.1007/s00776-007-1159-5.

173. Lee, Jeong Soo et al. 2018. “Reference values of neutrophil-lymphocyte ratio, lymphocyte-monocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, and mean platelet volume in healthy adults in South Korea.” *Medicine* vol. 97,26: e11138. doi:10.1097/MD.00000000000011138.

174. Guo, Ya-Huan et al. “The clinical use of the platelet/lymphocyte ratio and lymphocyte/monocyte ratio as prognostic predictors in colorectal cancer: a meta-analysis.” *Oncotarget* vol. 8,12 (2017): 20011-20024. doi:10.18632/oncotarget.15311.

175. Eo, Wan Kyu et al. “The Lymphocyte-Monocyte Ratio Predicts Patient Survival and Aggressiveness of Ovarian Cancer.” *Journal of Cancer* vol. 7,3 289-96. 29 Jan. 2016, doi:10.7150/jca.13432.

176. Hui ShanOng, Sandhya Gokavarapu Li ZhenWang, ZhenTian, Chen PingZhang. 2017. Low Pretreatment Lymphocyte-Monocyte Ratio and High Platelet-Lymphocyte Ratio Indicate Poor Cancer Outcome in Early Tongue Cancer. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* Volume 75, Issue 8, August

2017, Pages 1762-1774. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2016.12.023>.

177. Marek Sierzega, Marzena Lenart, Magdalena Rutkowska, Marta Surman, Bozenna Mytar, Andrzej Matyja, Maciej Siedlar, Jan Kulig. 2017. Preoperative Neutrophil-Lymphocyte and Lymphocyte-Monocyte Ratios Reflect Immune Cell Population Rearrangement in Resectable Pancreatic Cancer. *Annals of Surgical Oncology* volume 24, pages808–815. <https://doi.org/10.1245/s10434-016-5634-0>

178. Masatsune Shibutani, Kiyoshi Maeda, Hisashi Nagahara, Yasuhito Iseki, Tetsuro Ikeya, Kosei Hirakawa. 2017. Prognostic significance of the preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with colorectal cancer. *ONCOLOGY LETTERS* 13: 1000-1006. DOI: 10.3892/ol.2016.5487.

179. Zhang X, Karatepe K, Chiewchengchol D, Zhu H, Guo R, Liu P, Yu H, Ren Q, Luo X, Cheng T, Ma F, Xu Y, Han M and Luo HR (2020) Bacteria-Induced Acute Inflammation Does Not Reduce the Long-Term Reconstitution Capacity of Bone Marrow Hematopoietic Stem Cells. *Front. Immunol.* 11:626. doi: 10.3389/fimmu.2020.00626

180. Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>

181. Petrik N., Shevchenko O. Correlation between lymphocyte-monocyte ratio and cytokines in chronic inflammation in rats treated with allogeneic mesenchymal stem cells. *Inter Collegas.* 2020; Vol 7, No 3; 109-117

182. Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

183. Y. Wang, X. Chen, W. Cao, and Y. Shi, “Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications,” *Nature Immunology*, vol. 15, no. 11, pp. 1009–1016, 2014.

184. T. J. Kean, P. Lin, A. I. Caplan, and J. E. Dennis, “MSCs: delivery routes and engraftment, cell-targeting strategies, and immune modulation,” *Stem Cells International*, vol. 2013, Article ID 732742, 13 pages, 2013.

185. G. Ren, L. Zhang, X. Zhao et al., “Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide,” *Cell Stem Cell*, vol. 2, no. 2, pp. 141–150, 2008

186. R. Anzalone, M. L. Iacono, S. Corrao et al., “New emerging potentials for human Wharton’s jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity,” *Stem Cells and Development*, vol. 19, no. 4, pp. 423–438, 2010.

187. F. M. Abomaray, M. A. al Jumah, K. O. Alsaad et al., “Phenotypic and functional characterization of mesenchymal stem/multipotent stromal cells from decidua basalis of human term placenta,” *Stem Cells International*, vol. 2016, Article ID 5184601, 18 pages, 2016.

188. Nejadi M, Azami Tameh A, Vahidinia Z, Atlasi M A. Mesenchymal Stem Cells Improve Ischemic Stroke Injury by Anti-Inflammatory Properties in Rat Model of Middle Cerebral Artery Occlusion, *Iran Red Crescent Med J*. 2018; 20(1):e55085. doi: 10.5812/ircmj.55085.

189. Nejadi, M, Tameh, AA, Atlasi, MA. Role of toll-like receptors 2 and 4 in the neuroprotective effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an experimental model of ischemic stroke. *J Cell Biochem*. 2019; 120: 8053- 8060. <https://doi.org/10.1002/jcb.28083>

190. Gao F, Chiu SM, Motan DA, et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. *Cell Death Dis*. 2016;7(1):e2062. Published 2016 Jan 21. doi:10.1038/cddis.2015.327

191. Kavianpour M, Saleh M, Verdi J. The role of mesenchymal stromal cells in immune modulation of COVID-19: focus on cytokine storm. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):404. Published 2020 Sep 18. doi:10.1186/s13287-020-01849-7

192. Lee, BC., Kang, KS. Functional enhancement strategies for

immunomodulation of mesenchymal stem cells and their therapeutic application. *Stem Cell Res Ther* 11, 397 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01920-3>

193. Jiang, W, Xu, J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell Prolif.* 2020; 53:e12712. <https://doi.org/10.1111/cpr.12712>

194. Wu, X., Jiang, J., Gu, Z. et al. Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem Cell Res Ther* 11, 345 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01855-9>

195. Shevchenko, O., Petryk, N. Dynamics of changes in the cellular composition of the focus of inflammation in secondary chronic inflammation with the introduction of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport.* 2020, Vol 9, N 1, p 295-309. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.01.033>

196. Shevchenko, O. Petryk, N. Peculiarities of blood formation from bone marrow in secondary chronic inflammation on the background of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019, Vol 9, N 12, p 309-318. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2019.09.12.031>

Список публікацій здобувача за темою дисертації

1) в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Shevchenko O, Petryk N. Peculiarities of blood formation from bone marrow in secondary chronic inflammation on the background of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019; 9(12):309–318. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2019.09.12.031> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

2. Petryk N, Shevchenko O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation*. 2020; 43,1893–1901. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

3. Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res*. 2020; 13:293–301. <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

4. Petrik N, Shevchenko O. Correlation between lymphocyte-monocyte ratio and cytokines in chronic inflammation in rats treated with allogeneic mesenchymal stem cells. *Inter Collegas*. 2020; 7(3):109–117. <https://doi.org/10.35339/ic.7.3.109-117> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

5. Shevchenko O, Petryk N. Dynamics of changes in the cellular composition of the focus of inflammation in secondary chronic inflammation with the introduction of mesenchymal stem cells. *Journal of Education, Health and*

Sport. 2020; 9(1):295–309. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.01.033> (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Петрик НД, Шевченко ОМ. Протизапальна активність мезенхімальних стовбурових клітин при хронічному запаленні, викликаному λ -карагінаном у щурів. Патогенетичне обґрунтування. Протизапальні цитокіни. Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О. (Галицькі читання II) «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 2020 жовт. 29–30; Тернопіль. Тернопіль : ТНМУ імені І. Я. Горбачевського; 2020, с. 86–87. (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

7. Shevchenko OM, Petryk ND. The role of Mesenchymal stromal cells in aseptic inflammation: the initial preclinical research. Abstracts of 60. Österreichischen Chirurgenkongress; 2019 Juni 19–21; Innsbruck, Austria. Innsbruck; 2019, s. 98–99. (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

8. Шевченко ОМ, Петрик НД. Роль мезенхімальних стромальних клітин в асептичному запаленні: початкове доклінічне дослідження. Тези доповідей XVI Міжнародної наукової конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»: 2019 бер. 28–29; Харків. Харків: ХНУ ім. Каразіна, 2019, с. 286. (Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку).

9. Шевченко ОМ, Петрик НД. Роль мезенхімальних стромальних

клітин в асептичному запаленні: кістковомозкове кровотворення. Збірник II Міжнародної науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку науки та освіти»; 2020 вер. 15–16; Львів. Львів: Львівський науковий форум; 2020, с. 28. (*Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку*).

10. Шевченко ОМ, Петрик НД. Противовоспалительная активность мезенхимальных стволовых клеток при хроническом воспалении, вызванном λ -каррагиненом у крыс. лейкоцитарно-моноцитарное соотношение. Proceedings of the 6th International Scientific and Practical Conference «Scientific Horizon in the Context of Social Crises»; 2020 September 16–18; Tokyo, Japan. Tokyo, Japan: Otsuki Press; 2020, p. 95. (*Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку*).

11. Petryk N. Mesenchymal stem cells work against chronic inflammation in rats. Abstracts of Webinar on Immunology Research; 2020 October 13; London, UK. *Journal of Autoimmune Disorders*. 2020; S(1):4. (*Особистий внесок здобувача – ідея дослідження, літературний пошук, набір та опрацювання результатів дослідження, узагальнення і підготовка до друку*).

Апробація основних положень дисертації

- XVI Міжнародній науковій конференції студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 28–29 березня 2019 р.) – публікація тез, постерна доповідь,
- 60. Österreichischen Chirurgenkongress (Innsbruck, Austria, 19–21 Juni 2019) – публікація тез, постерна доповідь,
- XII Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О. (Галицькі читання II) «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.) – публікація тез,
- II Міжнародній науково-практичній конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку науки та освіти» (Львів, 15–16 вересня 2020 р.) – публікація тез,
- 6th International Scientific and Practical Conference «Scientific Horizon in the Context of Social Crises» (Tokyo, Japan, 16–18 September 2020) – публікація тез,
- Webinar on Immunology Research (London, UK, 13 October 2020) – публікація тез, усна доповідь.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.). Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.

2. Ким і коли запропонований: аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020 р.

3. Джерела інформації:

Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>

Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

4. Де і коли впроваджено: у навчальний процес кафедри патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, травень 2020 року.

5. Результати застосування методу; Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення. Обговорено на засіданні кафедри патофізіології 22 вересня 2020 р., протокол №3.

7. Зауваження, пропозиції не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
патофізіології Української медичної
стоматологічної академії,
д.мед.н., професор

V.O. Kostenko

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



В.о. ректора Одеського
національного медичного
університету, д.мед.н., професор

Вастьянов Р.С.

2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.

2. **Ким і коли запропонований:** аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020 р.

3. **Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про роботу НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.)

1) Petryk N., Shevchenko O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>; 2) Petryk N., Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

4. **Де і коли введено:** у навчальний процес кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету за 2020–2021 навчальний рік.

5. **Результати застосування методу** за період 2020-2021 рр. Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького, протокол №1 від 28 серпня 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Доцент кафедри загальної та клінічної
патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького
Одеського національного медичного університету,
доцент

Поспелов О.М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
науково-педагогічної роботи
Вінницького національного
медичного університету
імені М. І. Пирогова
проф. Ю. Й. Гумінський

«21» 01 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.
2. Ким і коли запропонований: аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020 р.
3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про роботу НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.)
 1. Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>
 2. Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>
4. Де і коли введено: у навчальний процес кафедри патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова за 2020– 2021 навчальний рік.
5. Результати застосування методу за період 2020 - 2021 рр.; Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання їх для профілактики хронічного запалення.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення.
7. Зауваження, пропозиції не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології, протокол №12 від «21» 01 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
патологічної фізіології,
д. мед. н., професор

Н. А. Рикало



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора
медичного інституту з наукової роботи
Сумського державного університету

«23» грудня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.
2. Ким і коли запропонований: аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020 р.
3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про роботу НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.)
 - 1) Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>
 - 2) Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>
4. Де і коли впроваджено: у навчальний процес кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету 2020 – 2021 навчальний рік.
5. Результати застосування методу за період 2020 - 2021 рр.: Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення.
7. Зауваження, пропозиції не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, протокол № 7 від «18» грудня 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
фізіології і патофізіології
з курсом медичної біології,
д. мед. н., професор

О. В. Атаман

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України

д.мед.н., проф. А.Г.Шульгай
« 29 » січня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.

2. Ким і коли запропонований: аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020 р.

3. Джерела інформації:

1) Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>

2) Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

4. Де і коли впроваджено: у навчальний процес кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського за 2020-2021 навчальний рік.

5. Результати застосування методу за період 2020-2021 рр. Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення.

7. Зауваження, пропозиції не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, протокол № 8 від 30.09.20 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
д.мед.н., професор

О. В. Денефіль

“ЗАТВЕРДЖУЮ”



Директор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету

проф. І.М. Владимірова

2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.

2. Ким і коли запропонований: аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020 р.

3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про роботу НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.)

1) Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* 43, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>

2) Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

4. Де і коли впроваджено: у навчальний процес кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету (м. Харків) за 2020 – 2021 навчальний рік.

5. Результати застосування методу за період 2020-2021 рр. Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення.

7. Зауваження, пропозиції не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології НФаУ, протокол № 3 від 09.10. 2020р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри нормальної та патологічної фізіології
Національного фармацевтичного університету,
д.мед.н., професор

Н.М. Кононенко


 «ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної
 роботи №01896866
 Харківського національного
 медичного університету
 проф. В. Д. Марковський

« 06 » листопада 2020р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.) Патогенетичне обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для профілактики хронізації запалення.

2. Ким і коли запропонований: аспірантом кафедри патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету Петрик Наталією Дмитрівною, 2020р.

3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про роботу НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.)

1) Petryk, N., Shevchenko, O. Anti-inflammatory Activity of Mesenchymal Stem Cells in λ -Carrageenan-Induced Chronic Inflammation in Rats: Reactions of the Blood System, Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation* **43**, 1893–1901 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01262-5>

2) Petryk N, Shevchenko O. Mesenchymal Stem Cells Anti-Inflammatory Activity in Rats: Proinflammatory Cytokines. *J Inflamm Res.* 2020;13:293-301 <https://doi.org/10.2147/JIR.S256932>

4. Де і коли впроваджено: у навчальний процес кафедри патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету за 2020 – 2021 навчальний рік.

5. Результати застосування методу за період 2020-2021 рр.: Отримана інформація підтверджує, що використання мезенхімальних стовбурових клітин призводить до зниження хронізації запалення і, таким чином, показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): покращення якості лікування і профілактики вторинно хронічного запалення.

7. Зауваження, пропозиції не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету, протокол № 27 від 05.11 2020р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедри патологічної
фізіології імені Д.О. Альперна
д.мед.н., професор

 О. В. Ніколасва