

УДК 616.127-002-073+616-092.9+615.451.16+615.832.98+615.324+632.938
DOI <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-4-4>

Федір ГЛАДКИХ

доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна; старший науковий співробітник відділу променевої патології та паліативної медицини, Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», fedir.hladykh@gmail.com
ORCID: 0000-0001-7924-4048

Тетяна ЛЯДОВА

доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, декан медичного факультету, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, t.lyadova@karazin.ua
ORCID: 0000-0002-5892-2599

Микола ЧИЖ

кандидат медичних наук, старший дослідник, завідувач відділу експериментальної кріомедицини, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, n.chizh@ukr.net
ORCID: 0000-0003-0085-296X

Марія МАТВЄЄНКО

доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», кандидат медичних наук, доцент, завідувачка кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, mariia.matvieienko@karazin.ua
ORCID: 0000-0002-0388-138X

Роман КОМОРОВСЬКИЙ

доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини № 2, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, komorovsky@tdmu.edu.ua
ORCID: 0000-0002-0288-4132

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СЕРЦЯ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ТА КРІОЕКСТРАКТУ СЕЛЕЗІНКИ НА МОДЕЛІ АУТОІМУННОГО МІОКАРДИТУ ЗА ДАНИМИ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Аутоімунні захворювання (АІЗ) вражають приблизно 10% населення світу. Оскільки АІЗ є системними розладами, із них, ураження серця є поширеним явищем. Неодмінну роль у розвитку міокардиту відіграють складні та аномальні аутоімунні механізми. Незважаючи на високу смертність та інвалідизацію, в даний час для лікування міокардиту доступне лише симптоматичне лікування. Нашу увагу привернуло вивчення ефективності застосування біотехнологічних препаратів, які не містять клітин, що піддаються дії низьких температур при їх отриманні (кріоекстракти) або при тривалому зберіганні.

Мета роботи – охарактеризувати морфологічний стан серця при застосуванні кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на моделі аутоімунного міокардиту (АІМ) за даними ультразвукового дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження ефективності кріоекстракту плаценти (КЕП) та кріоекстракту селезінки (КЕС) при АІМ проведені на 35 шурх-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 5 груп. Сонографічне дослідження серця проводили а допомогою ультразвукового ехотомоскопу «Сономед 500» («Полі-Спектр», Україна) у V- та M-режимах з використанням лінійного датчика 7,5L38 з частотою 7,5 МГц на 28 день експерименту.

Результати та їх обговорення. В результаті проведеного дослідження встановлено, що на тлі розвитку АІМ у шурів відмічено статистично вірогідне збільшення ($p < 0,001$) на 47,0% кінцево-сistolічного діаметра лівого шлуночка (КСД) до $5,5 \pm 0,17$ мм, що вказувало на виражену дилатацію серця. Товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД) збільшилася на 30,0% порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,001$), що свідчить про гіпертрофію серцевого м'яза в результаті запалення при АІМ. Також спостерігалось зниження відносної товщини стінки лівого шлуночка на 12,0% ($p = 0,04$), що вказує на структурні зміни в серцевому м'язі. Об'ємні показники, такі як кінцево-діастолічний об'єм та кінцево-сistolічний об'єм (КСО), показали тенденцію до збільшення ($p > 0,05$), що свідчить про дилатацію лівого шлуночка при АІМ без лікування.

Введення КЕП призвело до зниження товщини міжшлуночкової перегородки (ТМПД) на 18,7% порівняно з контролем ($p = 0,001$), що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін серця при АІМ. При застосуванні КЕС спостерігалось зменшення КСО на 31,7% ($p = 0,016$), що свідчить про значне покращення функції лівого шлуночка.

Висновки. Введення КЕП знизило ТМПД на 18,7% ($p=0,001$) відносно групи нелікованих тварин, що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін серця при АІМ, перевищуючи ефект кордарону (зменшення ТМПД на 9,9%, $p=0,01$). КЕС також знизив ТМПД на 12,1% ($p=0,006$), що підтверджує його потенціал як альтернативного препарату. Лікування КЕП зменшило КСО на 62,0% ($p<0,001$), що підкреслює його кардіопротекторний ефект. КЕС знизив КСО на 31,7% ($p=0,016$), підтверджуючи терапевтичний ефект, хоча менш виражений, ніж у КЕП.

Ключові слова: аутоімунний міокардит, ультразвукове дослідження, кінцево-діастолічний діаметр, кінцево-систолический діаметр, товщина міжшлуночкової перегородки.

Fedir Hladkykh, Tetyana Liadova, Mykola Chyzh, Mariia Matvieienko, Roman Komorovsky. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PLACENTAL AND SPLEEN CRYOEXTRACT EFFECTS ON HEART MORPHOMETRIC PARAMETERS IN AN AUTOIMMUNE MYOCARDITIS MODEL ASSESSED BY CARDIAC ULTRASOUND

Autoimmune diseases (AIDs) affect approximately 10% of the global population. As these conditions are often systemic, heart involvement is a frequent complication. In particular, myocarditis is closely linked to complex and abnormal autoimmune mechanisms. Despite its high mortality rate and potential for severe cardiac damage, treatment for myocarditis remains limited to symptomatic management. This prompted us to explore the effectiveness of biotechnological drugs, specifically cryoextracts – non-cellular products developed using low-temperature processing and designed for long-term storage.

The aim of the study is to characterize cardiac structure, with a focus on left ventricular morphology as assessed by ultrasound, when using placenta cryoextract and spleen cryoextract in a model of autoimmune myocarditis (AIM).

Materials and methods. The effectiveness of CEP (cryoextract of placenta) and CES (cryoextract of spleen) in AIM was studied on 35 male rats weighing 200-220 g, randomized into 5 groups. Ultrasound examination of the heart was performed using the Sonomed 500 ultrasound echotomoscope (Poli-Spectrum, Ukraine) in B-mode and M-mode with a linear probe (7.5L38, 7.5 MHz) on the 28th day of the experiment.

Results and Discussion. The study found that in rats with AIH, there was a statistically significant increase ($p<0.001$) in the left ventricular end-systolic diameter (LVD) by 47.0%, reaching 5.5 ± 0.17 mm, indicating pronounced cardiac dilation. The thickness of the interventricular septum in diastole (IVST) increased by 30.0% compared to intact animals ($p<0.001$), indicating myocardial hypertrophy due to inflammation in AIH. There was also a 12.0% decrease in the relative wall thickness of the left ventricle ($p=0.04$), suggesting structural changes in the myocardium. Volumetric parameters, such as the end-diastolic volume and end-systolic volume (ESV), showed a tendency to increase ($p>0.05$), indicating left ventricular dilation in AIH without treatment.

The introduction of CEP led to a decrease in the thickness of the interventricular septum (IVS) by 18.7% compared to the control ($p=0.001$), which indicates its effectiveness in restoring structural changes of the heart in AIM. When using CES, a decrease in the CSO by 31.7% ($p=0.016$) was observed, which indicates a significant improvement in left ventricular function.

Conclusions. CEP administration reduced IVST by 18.7% ($p=0.001$), demonstrating its effectiveness in restoring structural changes in the heart in AIH, surpassing the effect of Cordarone (IVST reduction of 9.9%, $p=0.01$). CES also reduced IVST by 12.1% ($p=0.006$), confirming its potential as an alternative drug. CEP treatment decreased ESV by 62.0% ($p<0.001$), highlighting its cardioprotective effect. CES reduced ESV by 31.7% ($p=0.016$), confirming its therapeutic effect, although less pronounced than that of CEP.

Key words: autoimmune myocarditis, ultrasound examination, end-diastolic diameter, end-systolic diameter, interventricular septal thickness.

Вступ. Історично склалося так, що вірусні інфекції мали складний зв'язок із різними аутоімунними захворюваннями (АІЗ), такими як системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, синдром Шегрена, системний васкуліт, целіакія та розсіяний склероз та ін. [1, 2]. З'являється все більше доказів того, що зараження коронавірусом типу 2 гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-2) пов'язане з розвитком аутоімунних явищ. Кілька досліджень повідомляли про наявність аутоантитіл у пацієнтів з коронавірусною хворобою 2019 (COVID-19) з різною частотою: антинуклеарні антитіла (ANA) у 35,6%, анти-Ro/SSA у 25%, ревматоїдний фактор у 19%, вовчаковий антикоагулянт у 11% і антитіла проти інтерферону (IFN)-I у 10% [1, 3, 4, 5].

Порушення кровообігу, що потребує застосування вазопресорів, може співіснувати з дихальною недостатністю у 71% пацієнтів із COVID-19, які проходять штучну вентиляцію легень [6]. Пряме ураження міокарда призводить до міоперикардиту, дисфункції міокарда та підвищення рівня серцевого тропоніну у 20% пацієнтів [7], що імітує септичну кардіоміопатію через цитокинові шторми [8,

9]. Це слід диференціювати від гострого коронарного синдрому з огляду на протромботичний стан [10] або тампонаду серця внаслідок перикардіального випоту [11, 12], що потребує термінового кардіологічного втручання [13].

Аутоімунні захворювання (АІЗ) вражають приблизно 10% населення світу. Оскільки АІЗ є системними розладами, із них, ураження серця є поширеним явищем. Запальні процеси та окислювальний стрес призводять до некроза кардіоміоцитів з подальшим порушенням електропровідності і структурним ремоделюванням. Крім того, хронічне запалення є патофізіологічною основою зв'язку АІЗ з вегетативною дисфункцією, включаючи симпатичну гіперактивацію та зниження парасимпатичної функції [14].

Запальна кардіоміопатія, що характеризується інфільтрацією запальних клітин у міокард і високим ризиком погіршення серцевої функції, має гетерогенну етіологію. Запальна кардіоміопатія переважно опосередковується вірусною інфекцією, але також може бути спричинена бактеріальними, протозойними або грибковими інфекціями,

а також широким спектром токсичних речовин і ліків та системними імуніопосередкованими захворюваннями. Незважаючи на численні дослідження, запальна кардіоміопатія, ускладнена дисфункцією лівого шлуночка, серцевою недостатністю або аритмією, асоціюється з несприятливим прогнозом. Наразі незрозуміла причина, чому деякі пацієнти одужують без залишкового ураження міокарда, тоді як у інших розвивається дилатаційна кардіоміопатія [15].

Неодмінну роль у розвитку міокардиту відіграють складні та аномальні аутоімунні механізми. Незважаючи на високу смертність і та інвалідизацію, в даний час для лікування міокардиту доступне лише симптоматичне лікування [16].

Нашу увагу привернуло вивчення ефективності застосування біотехнологічних препаратів, які не містять клітин, що піддаються дії низьких температур при їх отриманні (кріоекстракти) або при тривалому зберіганні. Об'єктом дослідження було обрано безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби [17] вітчизняного виробництва – кріоекстракт плаценти (КЕП), кріоекстракт селезінки (КЕС). У попередніх дослідженнях показана ефективність застосування безклітинних препаратів при низці АІЗ – аутоімунному енцефаломієліті [18], аутоімунному міокардиті [19], аутоімунному артриті [20], аутоімунному гепатиті [21] та мембранозній нефропатії [22].

Мета дослідження – охарактеризувати морфологічний стан серця при застосуванні кріоекстракту плаценти (КЕП) та кріоекстракту селезінки (КЕС) на моделі аутоімунного міокардиту (АІМ) за даними ультразвукового дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.), Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, що використовуються з науковою метою» (м. Брюссель, 2010 р.), наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р., наказу Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» № 944 від 14.12.2009 р., Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (м. Київ, 2001 р.).

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комісією з питань етики та біоетики

медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України (витяг з протоколу № 4/3 від 11 грудня 2024 р.).

АІМ моделювали за методикою Павленко Г.П. [23] шляхом внутрішньоочеревинного (в/о) введення щурам кардіотропної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванта Фрейнда (ПАФ) [24, 25] (*Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенного серця у співвідношенні 1:4. Серця гомогенізували у 0,9 % розчині NaCl з розрахунку 1 мл/100 мг, центрифугували впродовж 5 хв при 1000 об./хв., відбирали супернатант та змішували з ПАФ. Отриману кардіотропну антигенну суміш вводили щурам 4 рази по 1,0 мл/кг маси тіла на 1, 5, 9 та 13 дні експерименту [23, 24, 26]. КЕП та КЕС вводили в/м на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту. В якості референс-препарату обрано інгібітор реполяризації міокарда з α та β -блокуючою дією кордарон в дозі 10 мг/кг [27, 28], який вводили внутрішньовенно (в/в) на ізотонічному (5,0%) розчині глюкози за аналогічною схемою.

Дослідження ефективності КЕП та КЕС при АІМ проведені на 35 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 5 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;

II – щури зі змодельованим АІМ (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 13 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг;

III – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26 дні експерименту в/в вводили референс-препарат кордарон в дозі 10 мг/кг [27];

IV – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [29];

V – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [30];

Сонографічне дослідження серця проводили а допомогою ультразвукового ехотомоскопу «Сономед 500» («Полі-Спектр», Україна) у В- та М-режимах з використанням лінійного датчика 7,5L38 з частотою 7,5 МГц на 28 день експерименту, також визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС) за хвилину. Під час дослідження тварини перебували під інгаляційним наркозом.

Ультразвукове сканування проводили в площині, перпендикулярній поверхні грудної клітки з парастернального доступу по довгій осі серця. При дослідженні в М-модальному режимі вимірювали структури порожнин серця – діаметри та дис танції [31, 32, 33]:

- кінцево-діастолічний діаметр (КДД) лівого шлуночка (ЛШ), мм;
- кінцево-сistolічний діаметр ЛШ (КСД, мм);
- товщину міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД, мм);
- товщину міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС, мм);
- товщину задньої стінки ЛШ в діастолу (ТЗСД, мм);
- товщину задньої стінки ЛШ в систолу (ТЗСС, мм).

Після вимірювання зазначених параметрів анатомічних структур у автоматичному режимі проведено розрахунок морфометричних та функціональних характеристик серця (табл. 1).

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel 2010». Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілка (*Shapiro-Wilk test*, $n < 50$). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (*Levene's test*). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників за різних умов експерименту проводили статистичний аналіз з використанням параметричних або непараметричних критеріїв.

При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна-Уїтні (*Mann-Whitney*). Отримані значення порівнювали з критичними при рівні вірогідності вище 95,0 % ($p < 0,05$), вище 99,0 % ($p < 0,01$), вище 99,5 % ($p < 0,005$) та вище 99,9 % ($p < 0,001$) та робили висновок про ймовірність похибки.

Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді "M±m" (M±SE), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95 % ДІ: 5 % – 95 %), де 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал (Confidence interval – CI). При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді Me [LQ; UQ], де Me – медіана,

[LQ; UQ] – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квартиля (upper quartile – UQ) [35].

Результати дослідження та їх обговорення.

Дослідження впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кордарону на діаметри лівого шлуночка (ЛШ) серця щурів з АІМ на 28 день експерименту показало, що кінцево-діастолічний діаметр (КДД) ЛШ у тварин з АІМ без лікування збільшився до $6,6 \pm 0,23$ мм, але різниця була не статистично вірогідною ($p=0,2$) відносно показників інтактних щурів (табл. 2). На тлі застосування КЕП та КЕС не відмічено значущого зростання КДД ЛШ, але в усіх випадках зміни не досягли статистичної значущості порівняно з контрольною групою.

Що стосується кінцево-сistolічного діаметра (КСД) ЛШ, то у нелікованих щурів з АІМ спостерігалось значне збільшення показника до $5,5 \pm 0,17$ мм ($p < 0,001$), що вказує на виражену дилатацію ЛШ. У групах, де проводилося лікування (АІМ+кордарон, АІМ+кріоекстракти), спостерігалось значне зниження цього показника (див. табл. 2). Отримані результати свідчать, що кордарон та досліджувані кріоекстракти мають значний вплив на розміри ЛШ серця щурів з АІМ, зокрема знижуючи КСД ЛШ (див. табл. 2). Однак КДД не змінився значно після застосування цих засобів, що вказує на те, що їх вплив більше виражений на систолічну функцію серця.

У щурів з АІМ без лікування за результатами ультрасонографічного дослідження показано, що товщина міжшлуночкової перегородки збільшилась на 30,0% відносно показників інтактних тварин та становила $0,91 [0,87; 0,96]$ мм (табл. 3), що вказує на те, що запалення і пошкодження серцевого м'яза викликають гіпертрофію міжшлуночкової перегородки. Це збільшення було статистично значущим ($p < 0,001$), і можна припустити, що це є свідченням виражених патологічних змін у серці, пов'язаних з АІМ.

У групі щурів, які отримували кордарон, ТМПД становила $0,82 [0,74; 0,86]$ мм. Порівняно з контрольною групою, це зменшення було статистично значущим ($p=0,01$, зміна на 9,9%), що свідчить про деяку ефективність кордарону у зменненні гіпертрофії серцевого м'яза при АІМ (див. табл. 3).

Таблиця 1

Формули для розрахунку морфометричних показників ЛШ

| Показник | Формула розрахунку | Одиниці виміру |
|---|--|----------------|
| Кінцево-діастолічний об'єм (КДО) | $(7 \times (0,1 \times \text{КДД})^3) / (2,4 + (0,1 \times \text{КДД}))$ | мл |
| Кінцево-сistolічний об'єм (КСО) | $(7 \times (0,1 \times \text{КСД})^3) / (2,4 + (0,1 \times \text{КСД}))$ | мл |
| Відносна товщина стінки ЛШ (ВТС) | $\text{ВТС} = \text{ТЗСД} \times 2) / \text{КДД}$ | ум. од. |
| Маса міокарда ЛШ (ММ), формула Devereux R.B. [34] | $0,832 \times ((\text{ТМПД} + \text{КДД} + \text{ТЗСД})^3 - \text{КДД}^3) + 0,6$ | г |

Таблиця 2

Вплив кріоекстрактів плаценти та селезінки, кордарону на діаметри лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, мм ($M \pm m$ (95 % ДІ), N=35)

| Досліджуваний показник, одиниці вимірювання | Умови експерименту | | | | |
|---|--------------------------------|---|---|--|--|
| | I (1) група | II (2) група | III (3) група | IV (4) група | V (5) група |
| | Інтактні щури | Контроль (АІМ без лікування) | АІМ + кордарон | АІМ + кріоекстракт плаценти | АІМ + кріоекстракт селезінки |
| n | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Кінцево-діастолічний діаметр (КДД) лівого шлуночка (ЛШ), мм | 6,2±0,14 (95 % ДІ: 6,0–6,5) | 6,6±0,23 (95 % ДІ: 6,2–7,1) $p_1=0,2$ [6,4%] | 6,8±0,14 (95 % ДІ: 6,6–7,1) $p_2=0,5$ [3,0%] | 6,9±0,13 (95 % ДІ: 6,5–7,3) $p_2=0,4$ [4,2%] $p_3=0,7$ [1,1%] | 6,5±0,13 (95 % ДІ: 6,3–6,8) $p_2=0,8$ [1,2%] $p_3=0,2$ [3,9%] |
| Кінцево-систолічний діаметр ЛШ (КСД, мм) | 3,7±0,15 (95 % ДІ: 3,4–4,0) | 5,5±0,17 (95 % ДІ: 5,1–5,8) $p_1<0,001$ [47,0%] | 4,4±0,09 (95 % ДІ: 4,3–4,6) $p_2<0,001$ [18,9%] | 4,0±0,09 (95 % ДІ: 3,8–4,1) $p_2<0,001$ [27,6%] $p_3=0,003$ [10,7%] | 4,9±0,14 (95 % ДІ: 4,6–5,1) $p_2<0,001$ [22,7%] $p_3<0,001$ [30,3%] |

Примітки.

 p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;

[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;

Індексами p_1, p_2, p_3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Таблиця 3

Вплив кріоекстрактів плаценти та селезінки, кордарону на розміри стінок лівого шлуночка серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, мм ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], N=35)

| Досліджуваний показник, одиниці вимірювання | Умови експерименту | | | | |
|--|--------------------------------|---|---|---|--|
| | I (1) група | II (2) група | III (3) група | IV (4) група | V (5) група |
| | Інтактні щури | Контроль (АІМ без лікування) | АІМ + кордарон | АІМ + кріоекстракт плаценти | АІМ + кріоекстракт селезінки |
| n | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД), мм | 0,70 [0,67; 0,75] | 0,91 [0,87; 0,96] $p_2<0,001$ [30,0%] | 0,82 [0,74; 0,86] $p_2=0,01$ [9,9%] | 0,74 [0,72; 0,76] $p_2=0,001$ [18,7%] $p_3=0,09$ [9,8%] | 0,80 [0,77; 0,85] $p_2=0,006$ [12,1%] $p_3=0,45$ [2,4%] |
| Товщина міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС), мм | 1,2±0,03 (95 % ДІ: 1,2–1,3) | 1,3±0,07 (95 % ДІ: 1,2–1,5) $p_1=0,3$ [7,4%] | 1,1±0,02 (95 % ДІ: 1,1–1,2) $p_2=0,03$ [13,6%] | 1,3±0,02 (95 % ДІ: 1,2–1,3) $p_2=0,5$ [3,6%] $p_3<0,001$ [11,5%] | 1,3±0,04 (95 % ДІ: 1,2–1,4) $p_2=0,7$ [2,4%] $p_3=0,006$ [9,6%] |
| Товщина задньої стінки ЛШ в діастолу (ТЗСД), мм | 1,0±0,02 (95 % ДІ: 1,0–1,1) | 1,0±0,03 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_1=0,1$ [6,8%] | 1,0±0,02 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_2=0,7$ [1,5%] | 1,0±0,05 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_2=0,5$ [4,1%] $p_3=0,6$ [2,6%] | 1,0±0,03 (95 % ДІ: 0,9–1,0) $p_2=0,8$ [1,4%] $p_3=1,0$ [0,1%] |
| Товщина задньої стінки ЛШ в систолу (ТЗСС), мм | 1,5±0,03 (95 % ДІ: 1,5–1,6) | 1,7±0,04 (95 % ДІ: 1,7–1,8) $p_1=0,001$ [13,3%] | 1,8±0,03 (95 % ДІ: 1,5–1,6) $p_2=0,001$ [11,8%] | 1,6±0,03 (95 % ДІ: 1,6–1,7) $p_2=0,001$ [5,9%] $p_3=0,05$ [6,7%] | 1,6±0,03 (95 % ДІ: 1,6–1,7) $p_2=0,06$ [5,9%] $p_3=0,05$ [6,7%] |

Примітки.

 p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;

[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;

Індексами p_1, p_2, p_3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

Що стосується групи щурів, які отримували КЕП, то ТМПД в діастолу становила 0,74 [0,72; 0,76] мм, що виявило статистично значуще зменшення порівняно з показниками щурів контрольної групи ($p=0,001$, зміна на 18,7%). Це свідчить що КЕП має властивості відновлення структурних змін у серці, викликаних АІМ. Однак порівняння з іншими групами не дало значущих відмінностей ($p=0,09$, зменшення на 9,8%), що може вказувати на те, що КЕП не є ефективнішим за кордарон (зменшення ТМПД на 9,9%, $p=0,01$) у відновленні цих змін.

У групі щурів, які отримували КЕС, ТМПД становила 0,80 [0,77; 0,85] мм. Це також виявило статистично значуще зменшення порівняно з контрольною групою ($p=0,006$, зміна на 12,1%), хоча порівняння з щурами, яким вводили кордарон, не показало значущих відмінностей ($p=0,45$). Це може свідчити про те, що ефективність КЕС не сильно відрізняється від ефективності кордарону.

Дослідження також показало зміни товщини міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС), яка є ще одним важливим показником стану серцевого м'яза. У щурів, що не отримували лікування, ТМПС становила 1,3±0,07 мм. У групі щурів, які отримували кордарон, цей показник зменшився до 1,1±0,02 мм, що було статистично значущим ($p=0,03$, зміна на 13,6%), що свідчить про певну ефективність цього препарату у зменшенні гіпертрофії серцевого м'яза при АІМ (див. табл. 3). У групі, яка отримувала КЕП, цей показник був 1,3±0,02 мм, що не дало статистично значущих відмінностей від контрольної групи ($p=0,5$, зміна на 3,6%), але поступався за ефективністю кордарону, на що вказували статистично вірогідні зміни ($p<0,001$, різниця 11,5%). У групі щурів, які отримували КЕС, ТМПС становила 1,3±0,04 мм, що також не показало статистично значущих відмінностей порівняно з контрольною групою ($p=0,7$, різниця на 2,4%).

Проведена нами оцінка товщини задньої стінки ЛШ в діастолу (ТЗСД) показала, що у щурів контрольної групи вказаний показник залишалася на рівні 1,0±0,03 мм, що вказує на те, що не відбулося значних змін у серцевому м'язі. У групах, які отримували лікування (кордарон, КЕП та КЕС), ТЗСД ЛШ не змінилася суттєво в порівнянні з контрольною групою. Що стосується товщини задньої стінки ЛШ в систолу (ТЗСС), то у щурів групи контролю цей показник статистично вірогідно ($p<0,001$) збільшився на 13,3% відносно показників інтактних щурів та становив 1,7±0,04 мм (див. табл. 3). У групах, які отримували кордарон, КЕП та КЕС, ТЗСД залишалась майже на тому ж рівні, з незначними змінами, що вказує на те, що ці препарати можуть не мати вираженого впливу на зміни цього показника на тлі АІМ щурів.

Оцінка об'ємних показників серця щурів зі змодельованим АІМ показала, що кінцево-діастолічний об'єм (КДО), який визначає об'єм ЛШ в діастолу, у щурів контрольної групи мав тенденцію до збільшення ($p>0,05$) на 23,5% відносно показників інтактних тварин та становив 0,69±0,07 (95% ДІ: 0,56–0,83) мл (табл. 4). У групі, що отримувала кордарон, значення КДО становило 0,72±0,04 (95% ДІ: 0,65–0,80) мл, також без статистично значущих змін порівняно з контрольною групою ($p>0,05$). У групі, що отримувала КЕП, спостерігалось незначне збільшення КДО до 0,75±0,06 (95% ДІ: 0,64–0,86) мл, але розбіжності також були статистично незначущими ($p>0,05$). Група щурів, що отримувала КЕП, показала значення КДО 0,64±0,03 (95% ДІ: 0,58–0,71) мл, з мінімальними змінами відносно контрольної групи ($p>0,05$).

Кінцево-систолічний об'єм (КСО), що визначає об'єм ЛШ в систолу, показав значні відмінності між групами. У групі інтактних щурів КСО становив 0,13±0,01 (95% ДІ: 0,10–0,16) мл. У тварин з АІМ без лікування КСО значно збільшився до 0,41±0,04 (95% ДІ: 0,34–0,49) мл, що було статистично значущим порівняно з групою інтактних щурів ($p<0,001$) з розбіжністю 210,3%. В групі щурів з АІМ, які отримували кордарон, КСО знизився до 0,21±0,01 (95% ДІ: 0,19–0,24) мл, що є статистично значущим зменшенням ($p=0,002$) на 47,8%. Щури, які отримували КЕП, продемонстрували зменшення КСО до 0,16±0,01 (95% ДІ: 0,14–0,18) мл, що було статистично значущим ($p<0,001$) на 62,0%. У групі, що отримувала КЕС, спостерігалось зменшення КСО до 0,28±0,01 (95% ДІ: 0,23–0,33) мл, що також було статистично значущим ($p=0,016$), з розбіжністю 31,7% (див. табл. 4).

Оцінка відносної товщини задньої стінки ЛШ (ВТС) показала, що у тварин контрольної групи з АІМ без лікування, цей показник статистично вірогідно знизився ($p=0,04$) на 12,0% відносно показників інтактних щурів до 0,29±0,01 (95% ДІ: 0,26–0,32) мм, що свідчить про наявність структурних змін у серцевому м'язі, характерних для цього захворювання. У щурів, що отримували кордарон, цей показник залишався майже незмінним та становивши 0,29±0,01 (95% ДІ: 0,27–0,30) мм. Подібні результати були отримані і в групі щурів, які отримували КЕП: ВТС ЛШ становила 0,29±0,01 (95% ДІ: 0,27–0,31) мм, що не відрізнялося від значень тварин контрольної групи ($p=0,9$). У групі щурів, які отримували КЕС, ВТС ЛШ становила 0,30±0,01 (95% ДІ: 0,28–0,31) мм, що знову ж таки не демонструвало суттєвих змін порівняно з іншими групами (табл. 5).

Розрахована маса міокарда ЛШ у інтактних щурів становила 0,82±0,01 (95% ДІ: 0,80–0,84) г. На тлі розвитку АІМ маса міокарда дещо збільшилася

Таблиця 4

Вплив кріоекстрактів плаценти та селезінки, кордарону на об'ємні показники серця щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], N=35)

| Досліджуваний показник, одиниці вимірювання | Умови експерименту | | | | |
|---|-----------------------------------|---|--|---|---|
| | I (1) група | II (2) група | III (3) група | IV (4) група | V (5) група |
| | Інтактні щури | Контроль (АІМ без лікування) | АІМ + кордарон | АІМ + кріоекстракт плаценти | АІМ + кріоекстракт селезінки |
| n | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Кінцево-діастолічний об'єм (КДО), мл | 0,56±0,03 (95 % ДІ: 0,50–0,63) | 0,69±0,07 (95 % ДІ: 0,56–0,83) $p_1 > 0,05$ [23,5%] | 0,72±0,04 (95 % ДІ: 0,65–0,80) $p_2 > 0,05$ [4,6%] | 0,75±0,06 (95 % ДІ: 0,64–0,86) $p_2 > 0,05$ [8,3%] $p_3 > 0,05$ [7,0%] | 0,64±0,03 (95 % ДІ: 0,58–0,71) $p_2 > 0,05$ [7,0%] $p_3 > 0,05$ [10,7%] |
| Кінцево-систолический об'єм (КСО), мл | 0,13±0,01 (95 % ДІ: 0,10–0,16) | 0,41±0,04 (95 % ДІ: 0,34–0,49) $p_1 < 0,001$ [210,3%] | 0,21±0,01 (95 % ДІ: 0,19–0,24) $p_2 = 0,002$ [47,8%] | 0,16±0,01 (95 % ДІ: 0,14–0,18) $p_2 < 0,001$ [62,0%] $p_3 = 0,003$ [27,3%] | 0,28±0,01 (95 % ДІ: 0,23–0,33) $p_2 = 0,016$ [31,7%] $p_3 = 0,035$ [30,7%] |

Примітки.

p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;

[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;

Індексами p_1, p_2, p_3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

до $0,87 \pm 0,02$ (95% ДІ: $0,83-0,92$) г, що може свідчити про розвиток компенсаторних процесів у серці в умовах захворювання. Однак різниця була незначною і не досягла статистичної значущості ($p > 0,05$). У групах щурів, які отримували лікування кордароном, КЕП або КЕС, маса міокарда залишалася на схожому рівні, варіюючи від $0,85 \pm 0,01$ г до $0,87 \pm 0,02$ г. Всі ці значення не мали статистично значущих відмінностей порівняно з контрольними показниками (див. табл. 5). Це свідчить про те, що лікування не призводило до значних змін у вазі міокарда.

Узагальнюючи отримані результати дослідження ефективності КЕП та КЕС у щурів з АІМ нами виявлено значні зміни морфологічного стану серця. Ультразвукові дослідження виявили, що застосування вказаних біотехнологічних засобів призвело до покращення анатомічних показників серця, зокрема, зменшення КСД ЛШ порівняно з показниками тварин контрольної групи. Це свідчить про зниження дилатації ЛШ, що є характерною для АІМ. Проте КДД не зазнав суттєвих змін після терапії, що може вказувати на менший вплив препаратів на діастолічну функцію серця.

Що стосується структури серцевих м'язів, то було відзначено зменшення ТМПД та ТМПС після лікування. Найбільші зміни спостерігалися в групах, що отримували КЕП та кордарон. Це підтверджує, що ці препарати здатні знижувати гіпертрофію серцевого м'яза, яка є типовою ознакою запальних процесів, що виникають при АІМ. Проте за ефективністю в порівнянні з кордароном КЕП не виявився

значно кращим, хоча і мав відновлювальний ефект на товщину міжшлуночкової перегородки.

Щодо об'ємних показників серця, дослідження показало, що застосування КЕП та КЕС також сприяло зменшенню КСО ЛШ, що відображає покращення систолічної функції. Зниження цього показника у щурів, що отримували зазначені препарати, вказує на ефективність їх у відновленні функціональних показників серця в умовах АІМ, особливо в систолі. Однак зміни об'ємних показників, зокрема КСО, не мали статистично значущих відмінностей порівняно з контрольною групою, що може свідчити про обмежену дію препаратів на цей параметр.

Ще одним важливим аспектом є оцінка ВСТ ЛШ, яка показала, що застосування лікувальних засобів не призвело до значних змін у цьому параметрі. У всіх групах, що отримували лікування, цей показник залишався близьким до контрольних значень, що може свідчити про недостатній вплив препаратів на цей структурний аспект серцевого м'яза.

Відсутність значних змін маси міокарда ЛШ у щурів, що отримували КЕП та КЕС, також може свідчити про те, що ці препарати не призводять до значного збільшення або зменшення маси міокарда. Відсутність статистично значущих змін в цьому параметрі підтверджує, що терапія не має вираженого ефекту на масу серця, хоча й позитивно впливає на інші характеристики.

Таким чином, результати дослідження свідчать, що КЕП та КЕС можуть бути ефективними у корекції

Таблиця 5

Вплив кріоекстрактів плаценти та селезінки, кордарону на показники скоротливої функції міокарда ЛШ серця щурів з щурів з аутоімунним міокардитом на 28 день експерименту, % (M ± m (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], N=35)

| Досліджуваний показник, одиниці вимірювання | Умови експерименту | | | | |
|--|-----------------------------------|---|--|---|---|
| | I (1) група | II (2) група | III (3) група | IV (4) група | V (5) група |
| | Інтактні щури | Контроль (АІМ без лікування) | АІМ + кордарон | АІМ + кріоекстракт плаценти | АІМ + кріоекстракт селезінки |
| n | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Відносна товщина стінки ЛШ (ВТС) | 0,33±0,01 (95 % ДІ: 0,31-0,35) | 0,29±0,01 (95 % ДІ: 0,26-0,32) p ₁ =0,04 [12,0%] | 0,29±0,01 (95 % ДІ: 0,27-0,30) p ₂ =0,7 [2,2%] | 0,29±0,01 (95 % ДІ: 0,27-0,31) p ₂ =0,9 [0,8%] p ₃ =0,8 [1,4%] | 0,30±0,01 (95 % ДІ: 0,28-0,31) p ₂ =0,8 [1,8%] p ₃ =0,3 [4,1%] |
| Маса міокарда ЛШ (ММ), формула Devereux R.V. | 0,82±0,01 (95 % ДІ: 0,80-0,84) | 0,87±0,02 (95 % ДІ: 0,83-0,92) p ₁ >0,05 [6,6%] | 0,87±0,02 (95 % ДІ: 0,83-0,90) p ₂ >0,05 [0,9%] | 0,87±0,02 (95 % ДІ: 0,83-0,90) p ₂ >0,05 [0,9%] p ₃ >0,05 [0,1%] | 0,85±0,01 (95 % ДІ: 0,82-0,88) p ₂ >0,05 [2,9%] p ₃ >0,05 [2,1%] |

Примітки.

p₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;

[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;

Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

структурних порушень серця при АІМ. Подальші дослідження дозозалежного ефекту та комбінацій з іншими лікарськими засобами можуть допомогти вдосконалити терапевтичні підходи і досягти кращих результатів у лікуванні цього захворювання.

Висновки

1. На тлі розвитку АІМ у щурів відмічено статистично вірогідне збільшення (p<0,001) на 47,0% кінцево-сistolічного діаметра лівого шлуночка (КСД) до 5,5±0,17 мм, що вказувало на виражену дилатацію серця. Товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД) збільшилася на 30,0% порівняно з інтактними тваринами (p<0,001), що свідчить про гіпертрофію серцевого м'яза в результаті запалення при АІМ. Також спостерігалось зниження відносної товщини стінки лівого шлуночка (ВТС) на 12,0% (p=0,04), що вказує на структурні зміни в серцевому м'язі. Об'ємні показники, такі як кінцево-діастолічний об'єм (КДО) та кінцево-сistolічний об'єм (КСО), показали тенденцію до збільшення (p>0,05), що свідчить про дилатацію лівого шлуночка при АІМ без лікування.

2. Введення КЕП призвело до зниження товщини міжшлуночкової перегородки (ТМПД) на 18,7% порівняно з контролем (p=0,001), що свідчить про ефективність у відновленні структурних змін

серця при АІМ. Варто зазначити, що ефективність КЕП перевищувала ефект кордарону, де зменшення ТМПД склало 9,9% (p=0,01). Застосування КЕС призвело до статистично значущого зменшення ТМПД на 12,1% порівняно з контролем (p=0,006), що дозволяє розглядати КЕС як альтернативний препарат.

3. Лікування КЕП знизило кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка (КСО) на 62,0% (p<0,001), що є значним зменшенням дилатації серця, підтверджуючи ефективність КЕП у поліпшенні функціональних показників серця при АІМ. Це свідчить про виражений кардіопротекторний ефект КЕП.

4. При застосуванні КЕС спостерігалось зменшення КСО на 31,7% (p=0,016), що свідчить про значне покращення функції лівого шлуночка. Цей ефект є менш вираженим, ніж при застосуванні КЕП, але все ж статистично значущим, що підтверджує терапевтичний потенціал КЕС при АІМ.

Перспективи подальших досліджень. На основі отриманих результатів дослідження ефективності КЕП та КЕС при лікуванні АІМ є доцільним вивчення дозозалежного ефекту КЕП і КЕС, що дозволить оптимізувати терапевтичні режими. Комбінація з іншими препаратами може сприяти досягненню кращих результатів без побічних ефектів, що підвищить безпеку лікування.

Література:

1. Gracia-Ramos A. E., Martin-Nares E., Hernández-Molina G. New Onset of Autoimmune Diseases Following COVID-19 Diagnosis. *Cells*. 2021. № 10 (12). P. 3592. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10123592>
2. Winchester N., Calabrese C., Calabrese L. H. The Intersection of COVID-19 and Autoimmunity: What is Our Current Understanding? *Pathog Immun*. 2021. № 6(1). P. 31–54. DOI: <https://doi.org/10.20411/pai.v6i1.417>

3. Gazzaruso C., Carlo Stella N., Mariani G., Nai C., Coppola A., Naldani D., Gallotti P. High Prevalence of Antinuclear Antibodies and Lupus Anticoagulant in Patients Hospitalized for SARS-CoV2 Pneumonia. *Clin Rheumatol.* 2020. № 39(7). P. 2095–2097. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05180-7>
4. Zhou Y., Han T., Chen J., Hou C., Hua L., He S., Guo Y., Zhang S., Wang Y., Yuan J., Zhao C., Zhang J., Jia Q., Zuo X., Li J., Wang L., Cao Q., Jia E. Clinical and Autoimmune Characteristics of Severe and Critical Cases of COVID-19. *Clin Transl Sci.* 2020. № 13 (6). P. 1077–1086. DOI: <https://doi.org/10.1111/cts.12805>
5. Bastard P., Rosen L. B., Zhang Q., Michailidis E., Hoffmann H. H., Zhang Y., Dorgham K., Philippot Q., et al. Autoantibodies Against Type I IFNs in Patients with Life-Threatening COVID-19. *Science.* 2020. № 370 (6515). P. eabd4585. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abd4585>
6. Bhatraju P. K., Ghassemieh B. J., Nichols M., Kim R., Jerome K. R., Nalla A. K., Greninger A. L., Pipavath S., Wurfel M. M., Evans L., Kritek P. A., West T. E., Luks A., Gerbino A., Dale C. R., Goldman J. D., O'Mahony S., Mikacenic C. COVID-19 in Critically Ill Patients in the Seattle Region – Case Series. *N Engl J Med.* 2020. № 382 (21). P. 2012–2022. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2004500>
7. Shi S., Qin M., Shen B., Cai Y., Liu T., Yang F., Gong W., Liu X., Liang J., Zhao Q., Huang H., Yang B., Huang C. Association of Cardiac Injury with Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020. № 5 (7). P. 802–810. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.0950>
8. Channappanavar R., Perlman S. Pathogenic Human Coronavirus Infections: Causes and Consequences of Cytokine Storm and Immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017. № 39 (5). P. 529–539. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>
9. Huang K. J., Su I. J., Theron M., Wu Y. C., Lai S. K., Liu C. C., Lei H. Y. An Interferon-Gamma-Related Cytokine Storm in SARS Patients. *J Med Virol.* 2005. № 75 (2). P. 185–194. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.20255>
10. Dominguez-Erquicia P., Dobarro D., Raposeiras-Roubín S., Bastos-Fernandez G., Iñiguez-Romo A. Multivessel Coronary Thrombosis in a Patient with COVID-19 Pneumonia. *Eur Heart J.* 2020. № 41 (22). P. 2132. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa393>
11. Hua A., O'Gallagher K., Sado D., Byrne J. Life-Threatening Cardiac Tamponade Complicating Myo-Pericarditis in COVID-19. *Eur Heart J.* 2020. № 41 (22). P. 2130. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa253>
12. Dabbagh M. F., Aurora L., D'Souza P., Weinmann A. J., Bhargava P., Basir M. B. Cardiac Tamponade Secondary to COVID-19. *JACC Case Rep.* 2020. № 2 (9). P. 1326–1330. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaccas.2020.04.009>
13. Desai S. R., Wong J., Suhitharan T., Chan Y. W., Ng S. Y. Point of Care Ultrasound: A Clinical Decision Support Tool for COVID-19. *Singapore Med J.* 2023. № 64 (4). P. 226–236. DOI: <https://doi.org/10.11622/smedj.2021098>
14. Gawalko M., Balsam P., Lodziński P., Grabowski M., Krzowski B., Opolski G., Kosiuk J. Cardiac Arrhythmias in Autoimmune Diseases. *Circ J.* 2020. № 84 (5). P. 685–694. DOI: <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-19-0705>
15. Tschöpe C., Ammirati E., Bozkurt B., Caforio A. L. P., Cooper L. T., Felix S. B., Hare J. M., Heidecker B., Heymans S., Hübner N., Kelle S., Klingel K., Maatz H., Parwani A. S., Spillmann F., Starling R. C., Tsutsui H., Seferovic P., Van Linthout S. Myocarditis and Inflammatory Cardiomyopathy: Current Evidence and Future Directions. *Nat Rev Cardiol.* 2021. № 18 (3). P. 169–193. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00435-x>
16. Liu T., Fu Y., Shi J., He S., Chen D., Li W., Chen Y., Zhang L., Lv Q., Yang Y., Jin Q., Wang J., Xie M. Noninvasive Ultrasound Stimulation to Treat Myocarditis Through Splenic Neuro-Immune Regulation. *J Neuroinflammation.* 2023. № 20 (1). P. 94. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12974-023-02773-2>
17. Chyzyh M. O., Halchenko S. E., Hladkykh F. V., Byzov V. V., Rohoza L. A., Bielochkina I. V., Sleta I. V. Acellular Cryopreserved Biological Agents: Technology of Production and Composition Analysis. Monograph. Vinnytsia: Tvory; 2024. 264 p. DOI: <https://doi.org/10.46879/2024.1>
18. Hladkykh F. V. Evaluation of Tentative and Research Activity in Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis Against the Administration of Cell-Free Cryopreserved Biological Agents. *Psychiatry, Neurology and Medical Psychology.* 2024. № 11 (2(24)). P. 124–137. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02>
19. Hladkykh F. V. Characteristics of the Impact of Acellular Cryopreserved Biological Agents on Antioxidant-Prooxidant Homeostasis in Heart Tissues in a Model of Autoimmune Myocarditis. *Health & Education.* 2024. № 2. P. 23–30. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4>
20. Hladkykh F. V. Biochemical assessment of the inflammatory process activity under the influence of cell-free cryopreserved biological agents in a rat model of autoimmune arthritis. *Modern Medicine, Pharmacy, and Psychological Health.* 2024. № 1 (15). P. 8–12. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-1-1>
21. Hladkykh F. V., Lyadova T. I., Solovyiov S. O. Features of the Hepatocyte Cell Cycle in Experimental Autoimmune Hepatitis Under the Influence of Cryoextracts from Placenta and Spleen, as Well as the Conditioned Medium of Mesenchymal Stem Cells. *Clinical and Preventive Medicine.* 2024. Vol. 7. № 37. P. 24–37. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.7.2024.03>
22. Hladkykh F. V., Lyadova T. I. Experimental Study of Nephroprotective Properties of Cryoextracts of Placenta and Spleen, as Well as Conditioned Medium of Mesenchymal Stem Cells in Autoimmune Membranous Nephropathy. *Ukraine. National Health.* 2024. Vol. 3. № 77. P. 106–114. DOI: <https://doi.org/10.32782/2077-6594/2024.3/17>
23. Pavlenko H. P. Free Radical, Antioxidant, and Hemocoagulation Processes are Normal in Experimental Heart Pathology and Their Limitation by a Peptide Bioregulator. *Dissertation Abstract.* Kharkiv. 1993. 20 p.
24. Hladkykh F. V. Freund's Adjuvant is a Classic of Vaccine Adjuvants and the Basis of Experimental Immunology. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024. № 32 (3(50)). P. 414–439. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>
25. Freund J. Some Aspects of Active Immunization. *Annual Review of Microbiology.* 1947. № 1. P. 291–308. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.01.100147.001451>

26. Fontes J. A., Barin J. G., Talor M. V., Stickel N., Schaub J., Rose N. R., Cihakova D. Complete Freund's Adjuvant Induces Experimental Autoimmune Myocarditis by Enhancing IL-6 Production During Initiation of the Immune Response. *Immunity, Inflammation and Disease*. 2017. № 5 (2). P. 163–176. DOI: <https://doi.org/10.1002/iid3.155>
27. Dzhialiuk O. V., Stepaniuk H. I., Zaitchko N. V., Kovalenko S. I., Shabelnyk K. P. Characterization of the Effect of 4-[4-Oxo-4H-Quinazolin-3-yl] Benzoic Acid (PK-66) on the Course of Adrenaline-Induced Myocardial Dystrophy in Rats Based on Biochemical Studies. *Medical and Clinical Chemistry*. 2016. № 18 (4). P. 16–22. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7249>
28. Rybolovlev Yu. R., Rybolovlev R. S. Dosage of Substances for Mammals According to Biological Activity Constants. *Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR*. 1979. № 247 (6). P. 1513–1516.
29. Shepitko V. I. Structural and Functional Indicators of the Cryopreserved Liver and the Effect of Its Transplantation on the Morphofunctional State of a Number of Internal Organs: Dissertation. Kharkiv, 2004. 326 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/>
30. Bepalova I. G. Peptide Composition and Biological Action of Extracts of Cryopreserved Pig Spleen Fragments and Piglet Skin. Dissertation. Kharkiv, 2016. 162 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/>
31. Root-Bernstein R., Fairweather D. Unresolved Issues in Theories of Autoimmune Disease Using Myocarditis as a Framework. *Journal of Theoretical Biology*. 2015. № 375. P. 101–123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>
32. Chyzh M. O., Manchenko A. O., Trofimova A. V., Belochkina I. V. Ultrasound Assessment of Heart Remodelling Affected by Therapeutic Hypothermia and MSC on Myocardial Infarction Model. *Ukrainian Journal of Radiology and Oncology*. 2020. № 3(28). P. 222–240. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2020.222-240>
33. Chyzh M. O., Belochkina I. V., Globa V. Yu., Sleta I. V., Mikhailova I. P., Hladkykh F. V. Ultrasound Examination of Rat Hearts After Experimental Epinephrine-Induced Damage and the Application of Heart Xenoextract. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2024. № 32 (2(49)). P. 185–197. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>
34. Devereux R. B., Alonso D. R., Lutas E. M., Gottlieb G. J., Campo E., Sachs I., Reichek N. Echocardiographic Assessment of Left Ventricular Hypertrophy: Comparison to Necropsy Findings. *American Journal of Cardiology*. 1986. № 57 (6). P. 450–458. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(86\)90771-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90771-x)
35. Zar J. H. *Biostatistical Analysis* (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. 2014. 960 p.