

УДК: 616-092.4+616.127-002-073+632.938+576.5
DOI: <http://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>

Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі автоімунного міокардиту

Ф.В. Гладких^{1, 2}, Т.І. Лядова¹, Р.Р. Коморовський³, М.О. Чиж⁴

¹ Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

² ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва НАМН України», Харків

³ Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

⁴ Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків

Мета роботи – охарактеризувати вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) на функціональний стан серця при експериментальному автоімунному міокардиті (АІМ) за даними ультразвукового дослідження серця.

Матеріали і методи. АІМ моделювали шляхом введення щуром кардіотропної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванта Фрейнда та розчину антигену. Антигенну суміш вводили щуром 4 рази впродовж 14 днів. КС-МСК вводили на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту. Сонографічне дослідження серця проводили за допомогою ультразвукового ехотомоскопа «Сономед 500» («Полі-Спектр», Україна) на 28-й день експерименту.

Результати. Виявлено, що КС-МСК має виразний кардіопротективний ефект у щурів з АІМ. КС-МСК значно покращує структуру серця, знижує товщину стінок лівого шлуночка, нормалізує об'ємні показники та скоротливу функцію міокарда. Антиаритмічний препарат аміодарон також показує позитивні результати, однак його ефект менш виражений порівняно з КС-МСК. Терапевтичний потенціал КС-МСК у корекції гіпертрофії та порушень скоротливої функції міокарда підтверджується численними статистично значущими змінами, що спостерігалися в усіх досліджуваних групах.

Висновки. Лікування КС-МСК привело до значного зменшення вираженості гіпертрофії міокарда лівого шлуночка, про що свідчило зменшення товщини міжшлуночкової перегородки та задньої стінки лівого шлуночка. Кінцеводіастолічний та кінцевосистолічний об'єми також зменшилися, що супроводжувалось відновленням скоротливої функції серця: показники фракції викиду (75,8 %, $p < 0,001$) та фракції вкорочення (39,2 %, $p < 0,001$) в групі КС-МСК наблизилися до рівня інтактних щурів.

Ключові слова: автоімунний міокардит, мезенхімальні стовбурові клітини, фракція викиду, ударний об'єм, хвилинний об'єм, ультразвук.

Гладких Федір Володимирович, докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна; ст. наук. співр. відділу променевої патології та паліативної медицини, ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва» НАМН України, Харків
ORCID ID: 0000-0001-7924-4048

Scopus: 57226085532

Web of Science: 1507258

E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 11 грудня 2024 року

Hladkykh Fedir V., PhD in Health Care in specialty «Medicine», Doctoral student (Doctor of Sciences) of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, V.N. Karazin Kharkiv National University; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine, Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of NAMS of Ukraine

ORCID ID: 0000-0001-7924-4048

Scopus: 57226085532

Web of Science: 1507258

E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

Received 11.12.2024

Міокардити є групою запальних захворювань серцевого м'яза на тлі відсутності гострої або хронічної ішемічної хвороби серця, які характеризуються інфільтрацією міокарда імунними клітинами, некрозом міоцитів і рубцюванням та можуть обумовлювати шлуночкові аритмії, порушення провідності та запальну кардіоміопатію [1, 2]. Міокардит має широкий спектр клінічних проявів і траєкторій, при цьому більшість випадків минає спонтанно. Це також відносно поширена причина раптової серцевої смерті в молодих людей – від 6 до 10 % [3, 4].

Міокардит може мати гостру, фульмінантну, підгостру і хронічну форми. Гострий міокардит визначають як період < 1 місяця між появою симптомів і встановленням діагнозу [3]. Фульмінантний міокардит – це важка форма гострого міокардиту, що швидко розвивається, з асоційованим кардіогенним шоком, що потребує інотропів або механічної підтримки кровообігу. Підгострий міокардит характеризується тривалим пошкодженням міокарда внаслідок дії постійного або повторного стимулу запалення, але також може бути визначений як загоєний міокардит, якщо є ознаки попереднього активного міокардиту. Крім того, підгострий міокардит можна визначити як період від > 1 до 3 місяців між появою симптомів і встановленням діагнозу. Якщо симптоми зберігаються протягом тривалого періоду (> 1 місяця), хворобливий процес вважається хронічною запальною кардіоміопатією (таким чином, існує збіг із визначенням підгострого міокардиту) [5].

Міокардит часто може імітувати інші поширені серцеві захворювання, тому часто його важко діагностувати на основі клінічних симптомів. Однак дуже важливо встановити діагноз якомога раніше, оскільки лікування значно відрізняється і може значно покращити результати та запобігти прогресуванню захворювання до дилатаційної кардіоміопатії або серцевої недостатності [6].

Міокардит найчастіше асоціюється з вірусною етіологією, але також може бути спричинений іншими видами мікроорганізмів (бактеріями, грибами, найпростішими), системними імунними автоімунними захворюваннями, а також ліками та іншими речовинами [7].

Привертає увагу зростання поширеності автоімунних захворювань у всьому світі, зокрема й автоімунного міокардиту (АІМ) [8]. Оцінки щорічного збільшення загальної захворюваності та поширеності автоімунних захворювань у всьому світі становлять 19,1 та 12,5 % відповідно [9]. З'являється дедалі більше доказів того, що зараження коронавірусом типу 2 важкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-2) пов'язане з розвитком автоімунних захворювань [10].

В останні десятиліття пацієнти з міокардитом мали часткове або повне клінічне одужання за допомогою традиційного медикаментозного лікування, імуномодулювальної та імуносупресивної терапії, але у тих, хто не одужав, могла розвинути-ся дилатаційна кардіоміопатія [11, 12]. Тому дослідження ефективних і нових методів терапії стає все більше необхідним. В останні два десятиліття значного розвитку отримали підходи клітинної біологічної терапії. Х. Gu та співавтори (2020) продемонстрували, що екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) пуповини, полегшують вірусний міокардит шляхом активації опосередкованого АМРК/mTOR шляху потоку автофагії [11]. За даними [13] на сьогодні екзосоми та кондиційовані середовища МСК активно досліджуються як інноваційні підходи в лікуванні хворих на автоімунні захворювання.

Попередні дослідження [14] показали, що введення КС МСК нормалізує антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі АІМ у щурів. Термін «кондиційоване середовище» належить до рідкої фази середовища клітинної культури, збагаченої секретом культивованих клітин [15]. Культуральне середовище, збагачене секретом від МСК під час їх росту, отримало назву кондиційоване середовище МСК (КС-МСК) [16].

Мета роботи – схарактеризувати вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на функціональний стан серця при експериментальному автоімунному міокардиті за даними ультрасонографічного дослідження серця.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У дослідженні використано пуповинні МСК, отримані відповідно до принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects). Від усіх породіль-добровольців, залучених до дослідження, була отримана інформована згода. Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України. Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (витяг з протоколу № 17 від 2 жовтня 2023 р.).

Пуповинні МСК були верифіковані як прикріплені, негемопоетичні клітини, з потенціалом до спрямованого мультилінійного диференціювання, які експресують поверхневі маркери CD90,

CD105 і CD73, та не мають експресії маркерів CD14, CD34 і CD45, що оцінювали імуноцитохімічно. КС-МСК отримували під час культивування нативних культур пуповинних МСК в умовах газового інкубатора (37 °С, 5 % CO₂) у безсироватковому поживному середовищі Ігла в модифікації Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle Medium / Nutrient Mixture F-12 – DMEM/F12).

КС збирали після 3 пасажу, коли клітинний ріст переходив до стаціонарної фази. Стадію стаціонарного росту стабільної лінії МСК, коли настає дозрівання КС, оцінювали за формуванням конфлюентного шару клітин за допомогою інвертованого мікроскопа. КС-МСК піддавали ультрафільтрації за допомогою установки Vivaflow-200 (Sartorius, Німеччина) з використанням мембран (Millipore, Німеччина). КС-МСК порційно заморожували та зберігали при температурі –20 °С [17, 18].

КС-МСК стандартизували за вмістом галектину-1 (6,0 пг/мл), який визначали імуноферментним методом та корегували за допомогою фосфатно-сольового буфера [19]. Препарат КС-МСК із вмістом галектину-1 (6,0 пг/мл) вводили щурам внутрішньом'язово (в/м) у дозі 0,6 мл/кг маси тіла щура [19, 20]. Перед застосуванням КС-МСК за потреби разову дозу *ex tempore* розводили у фізіологічному розчині.

АІМ моделювали за методикою Г.П. Павленко [21] шляхом внутрішньоочеревинного (в/о) введення щурам кардіотропної антигенної суміші, яка складалась із повного ад'юванта Фрейнда [22] (Thermo Fisher Scientific, США) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенного серця у співвідношенні 1:4. Серця отримано від 7 щурів, виведених з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним трихлорметановим (CHCl₃) «рауш-наркозом». 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 повним ад'ювантом Фрейнда. Отриману кардіотропну антигенну суміш вводили щурам 4 рази по 1,0 мл/кг маси тіла на 1, 5, 9-й та 13-й дні експерименту [23–25]. КС-МСК вводили в/м на 14, 17, 20, 23-й та 26-й дні експерименту. Як референс-препарат обрано інгібітор реполяризації міокарда з α - та β -блокувальною дією аміодарон (кордарон, Sanofi, Франція) у дозі 10 мг/кг [25], який вводили внутрішньовенно (в/в) на ізотонічному (5,0 %) розчині глюкози за аналогічною схемою. Аміодарон був обраний як референс-препарат через його перевірену ефективність у лікуванні серцево-судинних порушень, зокрема аритмій, і здатність впливати на електричну стабільність міокарда. Окрім антиаритмічної дії, аміодарон має імуносупресивний ефект, що важливо для зменшення запальних процесів при АІМ.

Це дає змогу оцінити його вплив на ремодельовання серця порівняно з імуномодулювальними ефектами КС-МСК, що робить його ідеальним препаратом порівняння для такого комплексного підходу в лікуванні.

Дослідження ефективності КС-МСК при АІМ проведені на 28 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 4 групи:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 14, 17, 20, 13-й та 26-й 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-й та 26-й 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-й та 26-й дні експерименту в/в вводили референс-препарат аміодарон у дозі 10 мг/кг на ізотонічному (5,0 %) розчині глюкози [25];

IV – щури зі змодельованим АІМ (n=7), яким на 14, 17, 20, 13-й та 26-й дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [19, 20].

Сонографічне дослідження серця проводили за допомогою ультразвукового ехотомоскопа «Сономед 500» («Полі-Спектр», Україна) у В- та М-режимах із використанням лінійного датчика 7,5L38 з частотою 7,5 МГц на 28-й день експерименту, також визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС). 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 дистанції [26, 27]:

- кінцеводіастолічний діаметр (КДД) лівого шлуночка (ЛШ), мм;
- кінцевосистолічний 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 розраховували морфометричні та функціональні характеристики серця (табл. 1).

Також розраховували показники скоротливої функції міокарда ЛШ (табл. 2).

Експериментальні дослідження проведені відповідно до чинних вітчизняних та міжнародних

Таблиця 1

Формули для розрахунку морфометричних показників лівого шлуночка

Показник	Формула розрахунку
КДО, мл	$(7 \times (0,1 \times \text{КДД})^3) / (2,4 + (0,1 \times \text{КДД}))$
КСО, мл	$(7 \times (0,1 \times \text{КСД})^3) / (2,4 + (0,1 \times \text{КСД}))$
УО, мл	$\text{УО} = \text{КДО} - \text{КСО}$
ХО, мл/хв	$\text{ХО} = \text{УО} \times \text{ЧСС}$
ВТС	$\text{ВТС} = 2 \times \text{ТЗСД} / \text{КДД}$
ММ за формулою Devereux [28], г	$0,832 \times ((\text{ТМПД} + \text{КДД} + \text{ТЗСД})^3 - \text{КДД}^3) + 0,6$

КДО – кінцеводіастолічний об'єм; КДД – кінцеводіастолічний діаметр; КСО – кінцевосистолічний об'єм; КСД – кінцевосистолічний діаметр лівого шлуночка; УО – ударний об'єм; ХО – хвилинний об'єм; ВТС – відносна товщина стінки лівого шлуночка; ТЗСД – товщина задньої стінки лівого шлуночка в діастолу; ЧСС – частота серцевих скорочень; ММ – маса міокарда лівого шлуночка; ТМПД – товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу.

нормативно-правових актів: Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р. (зі змінами); 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 (Київ, 2001 р.); Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, що використовуються з науковою метою» (Брюссель, 2010 р.); Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) та ін.

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Office Excel 2010. Оцінку характеру розподілу величин у 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.

Таблиця 2

Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка

Показник	Формула розрахунку
СПМШП, %	$(\text{ТМПС} - \text{ТМПД}) / \text{ТМПД} \times 100 \%$
СПЗСЛШ, %	$(\text{ТЗСС} - \text{ТЗСД}) / \text{ТЗСД} \times 100 \%$
ФВк, %	$(\text{КДД} - \text{КСД}) / \text{КДД} \times 100 \%$
ФВ, %	$\text{ФВ} = \text{УО} / \text{КДО}$

СПМШП – систолічне потовщення міжшлуночкової перегородки; ТМПС – товщина міжшлуночкової перегородки в систолу; ТМПД – товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу; СПЗСЛШ – систолічне потовщення задньої стінки лівого шлуночка; ТЗСС – товщина задньої стінки лівого шлуночка в систолу; ТЗСД – товщина задньої стінки лівого шлуночка в діастолу; ФВк – фракція вкорочення; КДД – кінцеводіастолічний діаметр; КСД – кінцевосистолічний діаметр; ФВ – фракція викиду; УО – ударний об'єм; КДО – кінцеводіастолічний об'єм.

При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Стьюдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна – Вітні (Mann – Whitney). Зіставлення показників однієї групи при повторюваних вимірюваннях за різних умов експерименту проводили за непараметричним T-критерієм Вілкоксона (Wilcoxon T-test). Отримані значення порівнювали з критичними при рівні значущості вище ніж 95,0 % ($p < 0,05$), вище ніж 99,0 % ($p < 0,01$), вище ніж 99,5 % ($p < 0,005$) та вище ніж 99,9 % ($p < 0,001$) і робили висновок про ймовірність похибки.

Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді $M \pm m$ ($M \pm SE$), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95 % довірчий інтервал (ДІ) 5–95 %). При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді медіани (Me) [LQ; UQ], де [LQ; UQ] – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квартиля (upper quartile – UQ).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження показало, що на тлі розвитку АІМ у щурів на 28-й день експерименту спостерігається статистично значущо ($p < 0,001$) вище значення кінцевосистолічного діаметра (КСД) лівого шлуночка (ЛШ) до $(5,50 \pm 0,17)$ мм у контрольній групі порівняно з інтактними щурами $((3,70 \pm 0,15)$ мм), що вказує на виражене порушен-

Таблиця 3

Вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та аміодарону на діаметри лівого шлуночка серця в щурів з автоімунним міокардитом на 28-й день експерименту, мм ($M \pm m$ (95 % ДІ), $N=28$, $n=7$)

Показник	Умови експерименту			
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група
	Інтактні щури ($n=7$)	Контроль (АІМ без лікування) ($n=7$)	АІМ + аміодарон ($n=7$)	АІМ + КС-МСК ($n=7$)
КДД, мм	6,20±0,14 (95 % ДІ 6,0–6,5)	6,60±0,23 (95 % ДІ 6,2–7,1) $p_1=0,2$ [6,4 %]	6,80±0,14 (95 % ДІ 6,6–7,1) $p_2=0,5$ [3,0 %]	6,30±0,12 (95 % ДІ 6,0–6,5) $p_2=0,2$ [6,5 %] $p_3=0,01$ [8,2 %]
КСД, мм	3,70±0,15 (95 % ДІ 3,4–4,0)	5,50±0,17 (95 % ДІ 5,1–5,8) $p_1<0,001$ [47,0 %]	4,40±0,09 (95 % ДІ 4,3–4,6) $p_2<0,001$ [18,9 %]	3,80±0,11 (95 % ДІ 3,6–4,0) $p_2<0,001$ [30,3 %] $p_3<0,001$ [14,1 %]

p_1 – рівень статистичної значущості розбіжності показників; [%] – значення розбіжностей показників у відсотках; Індeksi 1, 2, 3 – номер групи, з показниками якої порівнювали. АІМ – автоімунний міокардит; КС-МСК – кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин; ДІ – довірчий інтервал; КДД – кінцеводіастолічний діаметр лівого шлуночка; КСД – кінцевосистолічний діаметр лівого шлуночка.

ня серцевої функції на тлі АІМ. Водночас введення аміодарону (група III) привело до зниження КСД до (4,40±0,09) мм ($p<0,001$) та у щурів, яким вводили КС-МСК (група IV) – до (3,80±0,11) мм ($p<0,001$), що свідчить про зменшення гіпертрофії ЛШ порівняно з контролем (табл. 3). Таким чином, КС-МСК продемонстрували найвиразніший ефект у зменшенні КСД ЛШ.

Що стосується кінцеводіастолічного діаметра (КДД) ЛШ, то у щурів контрольної групи зафіксовано збільшення до (6,60±0,23) мм ($p=0,2$) порівняно з інтактними щурами – (6,20±0,14) мм. Введення аміодарону не привело до значних змін ($p=0,5$), а ось введення КС-МСК сприяло значному зниженню КДД до (6,30±0,12) мм ($p=0,01$), що є статистично значущим порівняно з групою, яка не отримувала лікування.

Загалом, дослідження показує, що КС-МСК та аміодарон мають суттєвий вплив на діаметри ЛШ при АІМ, зокрема КС-МСК демонструють більш виражену терапевтичну ефективність у зниженні значення КСД ЛШ, що вказує на їх потенціал у лікуванні серцевої недостатності, спричиненої АІМ.

Крім того, дослідження показало, що у щурів з АІМ без лікування (контрольна група) на 28-й день експерименту спостерігали статистично значущо вищу товщину міжшлуночкової перегородки (ТМП) в діастолу (табл. 4). ТМП у щурів цієї групи становила 0,91 [0,87; 0,96] мм, що було на 30,0 % більше порівняно з інтактними щурами (0,70 [0,67; 0,75] мм, $p<0,001$). Введення аміодарону (група III) привело до зниження товщини ТМП до 0,82 [0,74;

0,86] мм, що на 9,9 % менше, ніж у контрольній групі ($p=0,01$). У групі тварин, яким вводили КС-МСК (група IV), товщина ТМП становила 0,72 мм [0,70; 0,77], що було на 20,9 % менше, ніж у контролі ($p=0,01$), але статистично не відрізнялося від інтактних щурів ($p=0,14$).

Щодо ТМП в систолу (ТМПС), то в контрольній групі вона становила (1,30±0,07) мм, що було на 7,4 % більше порівняно з інтактними щурами – (1,20±0,03) мм, $p=0,3$. У групі тварин з АІМ, лікованих аміодароном, цей показник знизилася до (1,10±0,02) мм ($p=0,03$), що на 13,6 % менше порівняно з показниками контрольних тварин. У групі щурів, яким вводили КС-МСК, ТМПС залишалася незмінною та становила (1,20±0,03) мм ($p=0,1$).

Товщина задньої стінки ЛШ в діастолу (ТЗСД) у щурів контрольної групи була (1,00±0,03) мм, з незначним зростанням на 6,8 % порівняно з показниками інтактних щурів – (1,00±0,02) мм, $p=0,1$. Введення аміодарону не змінило товщину стінки, вона залишалася (1,00±0,02) мм ($p=0,7$). У групі тварин з АІМ, яким вводили КС-МСК, товщина задньої стінки ЛШ була значно більшою до (1,10±0,04) мм ($p=0,002$), що становило 19,4 % порівняно з контрольними щурами ($p=0,001$).

Щодо товщини задньої стінки ЛШ у систолу (ТЗСС), в контрольній групі вона становила (1,70±0,04) мм, що було на 13,3 % більше, ніж в інтактних щурів – (1,50±0,03) мм, $p=0,001$. У групі щурів з АІМ, лікованих аміодароном, товщина зросла до (1,80±0,03) мм ($p=0,001$), що на 11,8 % було більше ніж показники контрольних тварин. У

Таблиця 4

Вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та аміодарону на розміри стінок лівого шлуночка серця в щурів з аутоімунним міокардитом на 28-й день експерименту, мм ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $N=28$, $n=7$)

Показник	Умови експерименту			
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група
	Інтактні щури (n=7)	Контроль (АІМ без лікування) (n=7)	АІМ + аміодарон (n=7)	АІМ + КС-МСК (n=7)
ТМПД, мм	0,70 [0,67; 0,75]	0,91 [0,87; 0,96] $p_1 < 0,001$ [30,0 %]	0,82 [0,74; 0,86] $p_2 = 0,01$ [9,9 %]	0,72 [0,70; 0,77] $p_2 = 0,01$ [20,9 %] $p_3 = 0,14$ [2,7 %]
ТМПС, мм	1,20 ± 0,03 (95 % ДІ 1,2–1,3)	1,30 ± 0,07 (95 % ДІ 1,2–1,5) $p_1 = 0,3$ [7,4 %]	1,10 ± 0,02 (95 % ДІ 1,1–1,2) $p_2 = 0,03$ [13,6 %]	1,20 ± 0,03 (95 % ДІ 1,2–1,3) $p_2 = 0,2$ [7,8 %] $p_3 = 0,1$ [6,6 %]
ТЗСД, мм	1,00 ± 0,02 (95 % ДІ 1,0–1,1)	1,00 ± 0,03 (95 % ДІ 0,9–1,0) $p_1 = 0,1$ [6,8 %]	1,00 ± 0,02 (95 % ДІ 0,9–1,0) $p_2 = 0,7$ [1,5 %]	1,10 ± 0,04 (95 % ДІ 1,1–1,2) $p_2 = 0,002$ [19,4 %] $p_3 = 0,001$ [17,7 %]
ТЗСС, мм	1,50 ± 0,03 (95 % ДІ 1,5–1,6)	1,70 ± 0,04 (95 % ДІ 1,7–1,8) $p_1 = 0,001$ [13,3 %]	1,80 ± 0,03 (95 % ДІ 1,5–1,6) $p_2 = 0,001$ [11,8 %]	1,50 ± 0,03 (95 % ДІ 1,5–1,6) $p_2 = 0,001$ [11,8 %] $p_3 = 1,0$ [0 %]

p_1 – рівень статистичної значущості розбіжності показників; [%] – значення розбіжностей показників у відсотках; Індеси 1, 2, 3 – номер групи, з показниками якої порівнювали. АІМ – аутоімунний міокардит; КС-МСК – кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин; ДІ – довірчий інтервал; ТМПД – товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу; ТМПС – товщина міжшлуночкової перегородки в систолу; ТЗСД – товщина задньої стінки лівого шлуночка в діастолу; ТЗСС – товщина задньої стінки лівого шлуночка в систолу.

групі щурів, які отримували КС-МСК, товщина залишилася без змін на рівні (1,50 ± 0,03) мм ($p=1,0$).

Таким чином, введення аміодарону та КС-МСК привело до статистично значущих змін у товщині стінок ЛШ. Зокрема ТМПД у групі з КС-МСК зменшилася найбільше (на 20,9 %) порівняно з контрольною групою. ТЗС ЛШ в діастолу (ТЗСД) була більшою на 19,4 % при введенні КС-МСК, що свідчить про більш виразний ефект цього препарату порівняно з аміодароном. Водночас ТЗСС зменшилася на 17,7 % в групі з КС-МСК, що також підтверджує кращий вплив цього препарату на зменшення гіпертрофії ЛШ порівняно з аміодароном.

Таким чином, усі досліджувані препарати мали певний вплив на розміри стінок серця у щурів з АІМ, але ефект КС-МСК був найбільш вираженим для ТМПД та ТЗСД (табл. 4).

Проведене дослідження показало, що на 28-й день експерименту в умовах АІМ у щурів спостерігали суттєві зміни об'ємних показників серця залежно від лікування (табл. 5).

Встановлено, що кінцеводіастолічний об'єм (КДО) у тварин контрольної групи (група II) становив (0,69 ± 0,07) мл (95 % ДІ 0,56–0,83), що на 23,5 % перевищувало показники в інтактних щурах –

(0,56 ± 0,03) мл, $p > 0,05$. Введення аміодарону (група III) не привело до статистично значущих змін і КДО становив (0,72 ± 0,04) мл ($p > 0,05$), що на 4,6 % більше порівняно з контролем. В групі щурів з АІМ, лікованих КС-МСК (група IV), КДО мав тенденцію до зниження та становив (0,57 ± 0,03) мл, що було на 17,7 % менше від показників контрольної групи ($p=0,1$), а порівняно з інтактними щурами об'єм був майже незмінним ($p=0,1$).

Так, кінцевосистолічний об'єм (КСО) у тварин контрольної групи становив (0,41 ± 0,04) мл (95 % ДІ 0,34–0,49), що на 210,3 % більше порівняно з інтактними щурами – (0,13 ± 0,01) мл, $p < 0,001$. Введення аміодарону привело до зниження КСО до (0,21 ± 0,01) мл ($p=0,002$), що було на 47,8 % менше, ніж у контролі. У групі з КС-МСК було найбільше зниження КСО – до (0,14 ± 0,01) мл ($p < 0,001$), що на 65,9 % менше порівняно з контрольною групою та на 34,7 % менше, ніж показники групи аміодарону ($p < 0,001$).

Ударний об'єм (УО) у щурів контрольної групи становив 0,26 [0,21; 0,29], що було на 40,8 % менше, ніж показники в інтактних щурах (0,44 [0,38; 0,47] мл, $p=0,013$). У щурів, яким вводили аміодарон (група III), УО значно зріс – до 0,51 мл [0,56;

Таблиця 5

Вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та аміодарону на об'ємні показники серця в щурів з автоімунним міокардитом на 28-й день експерименту, мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $N=28$, $n=7$)

Показник	Умови експерименту			
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група
	Інтактні щури ($n=7$)	Контроль (АІМ без лікування) ($n=7$)	АІМ + аміодарон ($n=7$)	АІМ + КС-МСК ($n=7$)
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 %]	0,57±0,03 (95 % ДІ 0,51–0,63) $p_2 = 0,1$ [17,7 %] $p_3 = 0,01$ [21,3 %]
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 %]	0,14±0,01 (95 % ДІ 0,12–0,16) $p_2 < 0,001$ [65,9 %] $p_3 < 0,001$ [34,7 %]
УО, мл	0,44 [0,38; 0,47]	0,26 [0,21; 0,29] $p_1 = 0,013$ [40,8 %]	0,51 [0,56; 0,54] $p_2 = 0,004$ [92,1 %]	0,41 [0,39; 0,44] $p_2 = 0,009$ [57,3 %] $p_3 = 0,03$ [24,6 %]
ХО, мл/хв	174 [136; 179]	117 [90; 126] $p_1 = 0,024$ [32,4 %]	223 [189; 243] $p_2 = 0,006$ [90,0 %]	170 [168; 184] $p_2 = 0,009$ [44,6 %] $p_3 = 0,07$ [23,9 %]
ЧСС за 1 хв	378±12 (95 % ДІ 354–403)	434±8 (95 % ДІ 718–449) $p_1 < 0,01$ [14,7 %]	431±10 (95 % ДІ 413–450) $p_2 > 0,05$	426±9 (95 % ДІ 408–444) $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$

p_1 – рівень статистичної значущості розбіжності показників; [%] – значення розбіжностей показників у відсотках; Індeksi 1, 2, 3 – номер групи, з показниками якої порівнювали. АІМ – автоімунний міокардит; КС-МСК – кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин; ДІ – довірчий інтервал; КДО – кінцеводіастолічний об'єм; КСО – кінцевосistolічний об'єм; УО – ударний об'єм; ХО – хвилинний об'єм; ЧСС – частота серцевих скорочень.

0,54] ($p=0,004$), що на 92,1 % було більше від показників тварин групи контролю. В групі щурів з АІМ, які отримували КС-МСК, УО становив 0,41 [0,39; 0,44] мл ($p=0,009$), що на 57,3 % більше, ніж у тварин контрольної групи, але менше на 24,6 % порівняно з показниками щурів, яким вводили аміодарон ($p=0,03$).

Хвилинний об'єм (ХО) у тварин групи контролю становив 117 [90; 126] мл/хв, що було на 32,4 % менше порівняно з аналогічним показником в інтактних щурів (174 [136; 179] мл/хв, $p=0,024$). У щурів, яких лікували аміодароном (група III), ХО збільшився до 223 [189; 243] мл/хв ($p=0,006$), що було на 90,0 % більше від показників щурів групи контролю. В групі щурів, яким вводили КС-МСК, ХО становив 170 [168; 184] мл/хв ($p=0,009$), що на 44,6 % більше порівняно з контролем, хоча ці зміни не були статистично значущими порівняно з показниками тварин, лікованих аміодароном ($p=0,07$).

Також встановлено, що частота серцевих скорочень (ЧСС) у щурів з АІМ була вищою (див. табл. 5), ніж в інтактних (434±8 проти 378±12 за

1 хв, $p < 0,01$, збільшення на 14,7 %). Лікування аміодароном та КС-МСК не привело до статистично значущих змін у ЧСС порівняно з контролем, і показники в обох групах залишалися в межах значень контрольної групи ($p > 0,05$).

Отже, введення КС-МСК і аміодарону привело до значного зменшення КСО та покращання УО, з найбільшим ефектом для КСО, до того ж при КС-МСК спостерігали його зниження на 65,9 % порівняно з показниками контрольних тварин. У групі щурів, лікованих КС-МСК, також спостерігалося зниження КДО на 17,7 % та зростання ХО на 44,6 % порівняно з показниками контрольних тварин, що свідчить про позитивний інотропний ефект досліджуваного біологічного препарату. Вплив на ЧСС не був статистично значущим, що може свідчити про інший механізм дії досліджуваних засобів порівняно з іншими серцевими параметрами.

Дослідження впливу КС-МСК та аміодарону на масу міокарда та товщину стінки ЛШ серця щурів з АІМ на 28-й день експерименту показало

Таблиця 6

Вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та аміодарону на масу міокарда та товщину стінки лівого шлуночка серця в щурів з автоімунним міокардитом на 28-й день експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $N=28$, $n=7$)

Показник	Умови експерименту			
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група
	Інтактні щури ($n=7$)	Контроль (АІМ без лікування) ($n=7$)	АІМ + аміодарон ($n=7$)	АІМ + КС-МСК ($n=7$)
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 %]	0,37±0,01 (95 % ДІ 0,35–0,38) $p_2<0,001$ [25,2 %] $p_3<0,001$ [28,0 %]
ММ за формулою Devereux	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±0,03 (95 % ДІ 0,81–0,93) $p_2>0,05$ [0,3 %] $p_3>0,05$ [0,6 %]

p_1 – рівень статистичної значущості розбіжності показників; [%] – значення розбіжностей показників у відсотках; Індeksi 1, 2, 3 – номер групи, з показниками якої порівнювали. АІМ – автоімунний міокардит; КС-МСК – кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин; ДІ – довірчий інтервал; ВТС – відносна товщина стінки лівого шлуночка; ММ – маса міокарда лівого шлуночка.

виразні зміни морфометричних параметрів серцевої тканини (табл. 6).

Так, у контрольних щурів з АІМ без лікування спостерігали зменшену відносну товщину стінки (ВТС) ЛШ, яка становила (0,29±0,01) мм. Цей показник був на 12,0 % менший порівняно з інтактними щурами ((0,33±0,01) мм, $p=0,04$). Лікування аміодароном не привело до значних змін у товщині стінки ЛШ ($p=0,7$), і цей параметр залишався на рівні (0,29±0,01) мм, що виявилось дуже близьким до контрольних значень. Натомість застосування КС-МСК привело до значного збільшення товщини стінки ЛШ до (0,37±0,01) мм, що було на 25,2 % більше порівняно з показниками тварин контрольної групи ($p<0,001$). Це свідчить про позитивний вплив КС-МСК на структурні зміни в серцевій стінці, спричинені АІМ.

Водночас маса міокарда (ММ) ЛШ статистично значущо не змінилася в результаті лікування (див. табл. 6), що можна пояснити стабільністю цього показника в усіх експериментальних групах. У контрольних тварин ММ становила (0,87±0,02) г, що було дещо вищим, ніж в інтактних щурів ((0,82±0,01) г), однак різниця не була статистично значущою ($p>0,05$). У щурів, які отримували аміодарон та КС-МСК, ММ залишалась на тому ж рівні, що і в контрольній групі – (0,87±0,02) г та (0,87±0,03) г відповідно, що також не привело до значних змін порівняно з інтактними тваринами ($p>0,05$). Це свідчить про те, що лікування не сприяло виразному збільшенню товщини, але, ймовірно, дало змогу зберегти його структуру та функ-

цію, не спричиняючи додаткових морфологічних змін.

Таким чином, хоча ММ залишалася незмінною, застосування КС-МСК привело до значного зменшення ВТС ЛШ, що вказує на покращання структурних параметрів серця при АІМ.

Вплив КС-МСК та аміодарону на показники скоротливої функції міокарда ЛШ серця щурів з АІМ на 28-й день експерименту був різним і демонстрував значні зміни в результатах порівняно з показниками у тварин групи контролю (табл. 7).

Встановлено, що систолічне потовщення міжшлуночкової перегородки (СПМШП) у щурів з АІМ без лікування становило 44,0 [36,2; 47,0] %, що є значно нижчим за норму (76,0 [67,6; 80,1]) в інтактних щурів. Це зниження становило 42,2 % ($p=0,001$). Лікування аміодароном не привело до значних змін СПМШП, і він залишався на рівні 34,1 [32,5; 55,0], що виявилось статистично незначущим ($p=0,5$). У групі щурів, що отримували КС-МСК, спостерігалось значне підвищення – 64,8 [57,2; 71,5], що на 47,4 % більше, ніж у контрольній групі ($p=0,03$). Однак цей показник був ще далеким від рівня інтактних щурів, хоча поліпшення було виразним (див. табл. 7).

Оцінка показника систолічного потовщення задньої стінки ЛШ (СПЗС) показала, що у тварин контрольної групи цей показник був дуже високим – 82,8 [75,5; 90,6] %, що на 65,6 % перевищувало показники інтактних щурів (50,0 [47,7; 50,0] %), це свідчить про виражене порушення функції серцевого м'яза. Лікування аміодароном підвищило вказаний показник до 54,6 [54,6; 57,2] %, що

Таблиця 7

Вплив кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та аміодарону на показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка серця в щурів з автоімунним міокардитом на 28-й день експерименту, % ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $N=28$, $n=7$)

Показник	Умови експерименту			
	I (1) група	II (2) група	I (1) група	IV (4) група
	Інтактні щури ($n=7$)	Контроль (АІМ без лікування) ($n=7$)	АІМ + аміодарон ($n=7$)	АІМ + КС-МСК ($n=7$)
СПМШП, %	76,0 [67,6; 80,1]	44,0 [36,2; 47,0] $p_1=0,001$ [42,2 %]	34,1 [32,5; 55,0] $p_2=0,5$ [22,3 %]	64,8 [57,2; 71,5] $p_2=0,03$ [47,4 %] $p_3=0,09$ [89,7 %]
СПЗС, %	50,0 [47,7; 50,0]	82,8 [75,5; 90,6] $p_1=0,006$ [65,6 %]	54,6 [54,6; 57,2] $p_2=0,013$ [34,0 %]	32,3 [24,2; 42,9] $p_2=0,002$ [61,0 %] $p_3=0,002$ [40,9 %]
ФВк, %	40,4 \pm 1,6 (95 % ДІ 37,3–43,5)	17,4 \pm 1,3 (95 % ДІ 14,8–20,1) $p_1<0,001$ [56,8 %]	35,1 \pm 0,6 (95 % ДІ 33,9–36,2) $p_2<0,001$ [101,1 %]	39,2 \pm 1,3 (95 % ДІ 36,7–41,8) $p_2<0,001$ [39,9 %] $p_3=0,01$ [11,9 %]
ФВ, %	75,8 [74,0; 79,1]	37,2 [35,0; 46,2] $p_1<0,001$ [50,8 %]	69,5 [68,9; 71,7] $p_2<0,001$ [86,5 %]	75,8 [75,2; 78,0] $p_2<0,001$ [103,4 %] $p_3=0,01$ [9,0 %]

p_1 – рівень статистичної значущості розбіжності показників; [%] – значення розбіжностей показників у відсотках; Індeksi 1, 2, 3 – номер групи, з показниками якої порівнювали. АІМ – автоімунний міокардит; КС-МСК – кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин; ДІ – довірчий інтервал; СПМШП – систолічне потовщення міжшлуночкової перегородки; СПЗС – систолічне потовщення задньої стінки лівого шлуночка; ФВк – фракція вкорочення; ФВ – фракція викиду.

на 34,0 % більше, ніж у контрольних тварин ($p=0,013$), однак ще залишалася значним відставанням від показників інтактних тварин. Натомість лікування КС-МСК виявило значне покращання, вказаний показник становив 32,3 [24,2; 42,9], що на 61,0 % менше порівняно з контрольними щурами ($p=0,002$), і значно наблизився до показника інтактних щурів, хоча все ще не досяг їх рівня ($p=0,002$).

Стосовно фракції вкорочення (ФВк), контрольні щури показали значне зниження – (17,4 \pm 1,3) % ($p<0,001$), що на 56,8 % менше порівняно з інтактними щурами – (40,4 \pm 1,6) %. У групі, що отримувала аміодарон, ФВк була дещо покращена до (35,1 \pm 0,6) % ($p<0,001$), що на 101,1 % більше порівняно з контрольною групою, але залишалася значно нижчою за норму. Введення КС-МСК мало ще більш виразний позитивний ефект, ФВк підвищилася до (39,2 \pm 1,3) % ($p<0,001$), що на 39,9 % більше, ніж у контрольних щурів, це значно покращило скоротливу здатність міокарда (див. табл. 7).

Щодо фракції викиду (ФВ), цей показник у контрольних щурів був значно знижений до 37,2 [35,0; 46,2] ($p<0,001$), що на 50,8 % менше, ніж нормальні значення (75,8 [74,0; 79,1]). У групі лікування аміодароном ФВ покращилася до 69,5 [68,9; 71,7] ($p<0,001$), що на 86,5 % більше порівняно з кон-

трольними щурами, хоча все ще залишалася на рівні, значно нижчому за норму. Лікування КС-МСК забезпечило повне відновлення цього показника до рівня інтактних щурів – 75,8 [75,2; 78,0] ($p<0,001$), що на 103,4 % більше від контрольних щурів, це свідчить про відновлення нормальної функції міокарда після лікування.

Загалом результати дослідження свідчать про ефективність КС-МСК у покращенні показників скоротливої функції міокарда ЛШ у щурів з АІМ. Лікування КС-МСК забезпечило значне покращення усіх основних параметрів, таких як систолічне потовщення стінок ЛШ, ФВк та ФВ, наближаючи їх до нормальних рівнів, що підкреслює потенціал цього біотехнологічного препарату для лікування серцевої недостатності в умовах АІМ.

В результаті дослідження встановлено, що КС-МСК має виразний позитивний вплив на різні показники серцевої функції щурів з АІМ. КС-МСК значно покращує структуру серця, знижує товщину стінок ЛШ, нормалізує об'ємні показники та скоротливу функцію міокарда. Водночас аміодарон також показує позитивні результати, його ефект є менш вираженим порівняно з КС-МСК. Терапевтичний потенціал КС-МСК у корекції гіпертрофії та порушень скоротливої функції міокарда підтверджується численними статистично значущими

змінами, що спостерігалися в усіх досліджуваних групах.

З огляду на отримані результати можна зробити висновок, що КС-МСК має перспективи стати важливим інструментом у лікуванні запальних захворювань, зокрема АІМ, адже, як відомо, МСК та їх безклітинні похідні (КС, екзосоми та ін.) мають здатність до модуляції запальних процесів, нормалізації антиоксидантного балансу та відновлення тканин, що сприяє поліпшенню структури та функції серця.

Ймовірно, саме протизапальна активність КС-МСК є основою їх кардіопротекторного ефекту, адже запалення відіграє ключову роль у патогенезі АІМ. У разі запалення серцевої тканини в організмі активуються патобіохімічні ланцюги, що ведуть до ушкодження кардіоміоцитів, некрозу та фіброзу, що в кінцевому підсумку призводить до порушення функцій серця. Проте КС-МСК здатні нівелювати зазначені процеси шляхом модуляції клітинної імунної відповіді. Регуляторна мережа факторів, що індукують генерацію регуляторних імунних клітин, є характеристикою МСК, які беруть участь в імунному гомеостазі, що робить їх сприятливими для імуномодуляції [29]. Так Y. Takafuji та співавтори [30] виявили, що введення КС-МСК знижує експресію фактора некрозу пухлини α та інтерлейкіну-6 у макрофагах шляхом пригнічення мітоген-активованої протеїнкінази і ядерного фактора каппа-В (NF- κ B), одночасно знижуючи експресію маркерів M2.

Механізм кардіопротекторної дії КС-МСК полягає не тільки в їхній здатності зменшувати запалення, а й у стимулюванні процесів регенерації серцевої тканини. МСК впливають на активність різних факторів росту, таких як VEGF (фактор росту судинного ендотелію) та FGF (фактор росту фібробластів), які стимулюють ангиогенез та відновлення пошкоджених судин. Крім того, КС-МСК здатні знижувати рівень окисного стресу, що є важливим складником запальних процесів у серцевій тканині [14].

ВИСНОВКИ

Результати дослідження підтверджують ефективність кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин у корекції структурних та функціональних порушень серця у щурів з

автоімунним міокардитом. Лікування кондиційованим середовищем мезенхімальних стовбурових клітин сприяло значному зменшенню товщини міжшлуночкової перегородки та задньої стінки лівого шлуночка, що вказує на зменшення гіпертрофії м'язової тканини серця. Кінцеводіастолічний та кінцевосистолічний об'єми також знизилися, відновлюючи нормальну скоротливу функцію серця. Показники фракції викиду та фракції вкорочення в щурів, які отримували кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин, наблизилися до рівня інтактних щурів. Порівняно з аміодароном кондиційоване середовище мезенхімальних стовбурових клітин продемонструвало більш виражене покращання усіх показників функціональної активності серця, зокрема сприяло відновленню скоротливості міокарда та зменшенню гіпертрофії, що робить його перспективним для терапії у хворих на автоімунний міокардит.

Прикінцеві твердження

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування» (номер державної реєстрації 0123U105022, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, к. мед. н., доцент О.В. Волобуєва).

Перспективи подальших досліджень. Перспективи подальших досліджень охоплюють ретельне вивчення механізмів дії кондиційованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на молекулярному рівні, зокрема, їх вплив на регуляцію прозапальних і протизапальних цитокінів у контексті автоімунного міокардиту. Варто також оцінити довготривалу ефективність та безпечність цих препаратів, а також їх взаємодію з іншими терапевтичними засобами. Додатково слід дослідити вплив цих препаратів на функціональні показники серця в більш тривалих експериментах.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: ідея, концепція та дизайн роботи, статистична обробка отриманих результатів, формулювання висновків, написання статті – Ф.Г.; виконання експериментальних досліджень – Ф.Г., М.Ч.; обговорення отриманих результатів, огляд літературних джерел, редагування статті – Т.Л., Р.К., М.Ч.

Література

1. Jahandideh A, Virta J, Li XG, Liljenbäck H, Moisio O, Ponkamo J, Rajala N, Alix M, Lehtonen J, Мдурдпрдд MI, Salminen TA, Knuuti J, Jalkanen S, Saraste A, Roivainen A. Vascular adhesion protein-1-targeted PET imaging in autoimmune myocarditis. *J Nucl Cardiol*. 2023 Dec;30(6):2760-72. <https://doi.org/10.1007/s12350-023-03371-8>.
2. Hladkykh FV. Immunopathological aspects of the etiopathogenesis of myocarditis. *Ukr Cardiol J*. 2024;31(1):103–12. <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>
3. Ammirati E, Frigerio M, Adler ED, Basso C, Birnie DH, Brambatti M, Friedrich MG, Klingel K, Lehtonen J, Moslehi JJ, Pedrotti P, Rimoldi OE, Schultheiss HP, Tschöpe C, Cooper LT Jr, Camici PG. Management of Acute Myocarditis and Chronic Inflammatory Cardiomyopathy: An Expert Consensus Document. *Circ Heart Fail*. 2020 Nov;13(11):e007405. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007405>.
4. Eckart RE, Shry EA, Burke AP, McNear JA, Appel DA, Castillo-Rojas LM, Avedissian L, Pearse LA, Potter RN, Tremaine L, Gentlesk PJ, Huffer L, Reich SS, Stevenson WG; Department of Defense Cardiovascular Death Registry Group. Sudden death in young adults: an autopsy-based series of a population undergoing active surveillance. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Sep 13;58(12):1254-61. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.01.049>.
5. Lampejo T, Durkin SM, Bhatt N, Guttman O. Acute myocarditis: aetiology, diagnosis and management. *Clin Med (Lond)*. 2021 Sep;21(5):e505-e510. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0121>.
6. Suresh A, Martens P, Tang WHW. Biomarkers for Myocarditis and Inflammatory Cardiomyopathy. *Curr Heart Fail Rep*. 2022 Oct;19(5):346-55. <https://doi.org/10.1007/s11897-022-00569-8>.
7. Tschöpe C, Ammirati E, Bozkurt B, Caforio ALP, Cooper LT, Felix SB, Hare JM, Heidecker B, Heymans S, Hübner N, Kelle S, Klingel K, Maatz H, Parwani AS, Spillmann F, Starling RC, Tsutsui H, Seferovic P, Van Linthout S. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nat Rev Cardiol*. 2021 Mar;18(3):169-93. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00435-x>.
8. Miller FW. The increasing prevalence of autoimmunity and autoimmune diseases: an urgent call to action for improved understanding, diagnosis, treatment, and prevention. *Curr Opin Immunol*. 2023 Feb;80:102266. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2022.102266>.
9. Lerner A, Jeremias P, Matthias T: The World Incidence and Prevalence of Autoimmune Diseases is Increasing. *Intern J Cel Dis*. 2016;3:151-5.
10. Gracia-Ramos AE, Martin-Nares E, Hernández-Molina G. New Onset of Autoimmune Diseases Following COVID-19 Diagnosis. *Cells*. 2021 Dec 20;10(12):3592. <https://doi.org/10.3390/cells10123592>.
11. Gu X, Li Y, Chen K, Wang X, Wang Z, Lian H, Lin Y, Rong X, Chu M, Lin J, Guo X. Exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate viral myocarditis through activating AMPK/mTOR-mediated autophagy flux pathway. *J Cell Mol Med*. 2020 Jul;24(13):7515-30. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15378>.
12. Esfahani K, Buhlaiga N, Thébaud P, Lapointe R, Johnson NA, Miller WH Jr. Alemtuzumab for Immune-Related Myocarditis Due to PD-1 Therapy. *N Engl J Med*. 2019 Jun 13;380(24):2375-6. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1903064>.
13. Hladkykh FV. Mesenchymal stem cells: exosomes and conditioned media as innovative strategies in the treatment of autoimmune diseases. *Clin and Prev Med*. 2023;6(28):121-30. <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>.
14. Hladkykh FV. 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;2:23-30. <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4>.
15. Solursh M, Meier S. A conditioned medium (CM) factor produced by chondrocytes that promotes their own differentiation. *Developmental Biology*. 1973;30(2):279-89. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(73\)90089-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(73)90089-4).
16. Kim HO, Choi S-M, Kim H-S. Mesenchymal stem cell-derived secretome and microvesicles as a cell-free therapeutics for neurodegenerative disorders. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2013;10:93-101. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13770-013-0010-7>.
17. Nesteruk GV, Alabedalkarim NM, Kolot NV, Komaromi NA, Protsenko OS, Lehach YI. Effect of conditioned media from glial cell cultures on the reproductive system of female rats of different ages. *Problems of Endocrine Pathology*. 2022;79(2):88-96. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2022.2.13>.
18. Caroline Evette Mathen. Patent. A61K35/12. Stem cell conditioned media for clinical and cosmetic applications. Application PCT/IN2018/050078. 2018. Publication of WO2018150440A1. <https://patents.google.com/patent/WO2018150440A1/>
19. Golubinskaya PA, Sarycheva MV, Dolzhikov AA, Bondarev VP, Stefanova MS, Soldatov VO, Nadezhdin SV, Korokin MV, et al. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):416-25. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>.
20. Globa VY. Application of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction. PhD Dissertation, Kharkiv, 2021. 156 p. Available at: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/>.
21. Pavlenko HP. 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.
22. Hladkykh FV. Freund's adjuvant is a classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology. *J V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2024;32(3(50)):414-39. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>.
23. Fontes JA, Barin JG, Talor MV, Stickel N, Schaub J, Rose NR, 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):163-76. <https://doi.org/10.1002/iid3.155>.
24. Root-Bernstein R, Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *J Theoretical Biol*. 2015;375:101-23. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022>.
25. Dzhialiuk OV, Stepaniuk HI, Zaitchko NV, Kovalenko SI,

- Shabelnyk KP. 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. *Med Clin Chem.* 2016;18(4):16-22. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7249>.
26. Chyzh MO, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Ultrasound assessment of heart remodelling affected by therapeutic hypothermia and MSC on myocardial infarction model. *Ukrainian journal of radiology and oncology.* 2020;3(28):222-40. <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2020.222-240>.
27. Chyzh MO, Belochkina IV, Globa VYu, Sleta IV, Mikhailova IP, Hladkykh FV. 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)):185-97. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>.
28. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol.* 1986;57(6):450-8. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(86\)90771-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90771-x).
29. Jin QH, Kim HK, Na JY, Jin C, Seon JK. Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cell-conditioned media inhibited macrophages activation in vitro. *Sci Rep.* 2022 Mar 19;12(1):4754. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08398-4>.
30. Takafuji Y, Hori M, Mizuno T, Harada-Shiba M. Humoral factors secreted from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorate atherosclerosis in Ldlr^{-/-} mice. *Cardiovasc Res.* 2019 May 1;115(6):1041-51. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy271>.

Ultrasonic characterization of the effect of conditioned medium from mesenchymal stem cells on cardiac function in experimental autoimmune myocarditis

F.V. Hladkykh^{1,2}, T.I. Liadova¹, R.R. Komorovsky³, M.O. Chyzh⁴

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

² State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

³ Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

⁴ Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

The aim – to characterize the effect of the conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM) on cardiac function in experimental autoimmune myocarditis, based on echocardiographic data.

Materials and methods. Autoimmune myocarditis was modeled by injecting rats with a cardiotropic antigenic mixture consisting of Freund's complete adjuvant and an antigen solution. The antigenic mixture was administered to rats 4 times over 14 days. MSC-CM was administered on days 14, 17, 20, 23, and 26 of the experiment. Echocardiographic studies of the heart were performed using the «Sonomed 500» ultrasound echotomoscopes («Poli-Spectrum», Ukraine) on the 28th day of the experiment.

Results. The study found that MSC-CM had a pronounced cardioprotective effect in rats with autoimmune myocarditis. MSC-CM significantly improved the heart structure, reduced the left ventricular wall thickness, and normalized volumetric parameters and myocardial contractile function. While amiodarone also showed positive results, its effect was less pronounced compared to MSC-CM. The therapeutic potential of MSC-CM in correcting hypertrophy and impaired myocardial contractility was confirmed by numerous statistically significant changes observed in all experimental groups.

Conclusions. Treatment with MSC-CM led to a significant reduction in the thickness of the interventricular septum and the posterior wall of the left ventricle, resulting in a decrease in hypertrophy. Both end-diastolic volume and end-systolic volume reduced and cardiac function. Left ventricular ejection fraction (75.8 %, $p < 0.001$) and fractional shortening (39.2 %, $p < 0.001$) in the MSC-CM group approached the levels observed in intact rats.

Key words: autoimmune myocarditis, mesenchymal stem cells, ejection fraction, stroke volume, cardiac output, ultrasound.