

## ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АУТОІМУНИМ ТИРЕОЇДИТОМ НА РАННІХ ТЕРМІНАХ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ АЛОГЕННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФЕТАЛЬНИХ КЛІТИН\*

Малова Н. Г., Комарова І. В., Сиротенко Л. А., Анікєєва К. С.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків  
n.g.malova@jandex.ua; komarova2007@list.ru*

На теперішній час не існує нових концепцій щодо комплексного підходу до лікування як самого аутоімунного тиреоїдиту (АІТ), так і його ускладнень, зокрема, гіпотиреозу, за допомогою нових біологічно активних сполук біологічного походження, в тому числі, стовбурових клітин, серед яких найбільш перспективними є мезенхімальні стромальні клітини, які здатні відновлювати уражені ланки метаболізму.

В Україні проблема корегування аутоімунних патологій щитоподібної залози (ЩЗ) має особливо важливе значення. На теперішній час в світовому соціумі основний напрямок стратегії лікування АІТ переважно обмежується заходами замісної терапії тиреоїдними гормонами. Однак, не дивлячись на наявність на фармацевтичному ринку широкого спектру гормональних препаратів, су-

часні терапевтичні підходи не вирішують основної задачі лікування — відновлення функціональної активності ураженого органу та не приводить до повноцінної нормалізації гормонального та імунного статусу організму. Окрім того, тривале застосування гормональних препаратів може викликати побічні ефекти, які інколи є не менш важкими, ніж основне захворювання.

Перспективною альтернативою замісної терапії ендокринних захворювань в певній мірі можуть бути фетальні біопрепарати, в тому числі й стовбурових клітин (СК), використання яких в останнє десятиріччя інтенсивно розширюється [1]. Ефективність біопрепаратів підтверджується результатами експериментальних та клінічних досліджень [2–4].

Відомо, що ембріональні тканини мі-

\*Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи лабораторії фармакології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» «Експериментальне обґрунтування застосування біологічно активних сполук різного походження для корекції аутоімунного ураження щитоподібної залози» (№ держреєстрації 0114U001206).

Установою, що фінансує дослідження, є НАМН України.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що надруковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості.

Рукопис надійшов до редакції 7.12.2016.

стять велику кількість різних активаторів регенерації та диференціювання — фактор росту фібробластів, фактор росту нервів, фактор, що стимулює зростання макрофагальних та еритроїдних колоній, а також антипроліферативні цитокіни, які запобігають клітинній та системній гіперстимуляції тощо. Розробка методів тривалого культивування стовбурових клітин, отриманих із різних тканин тварин і людини, а також виділених з ембріонів, плодів і дорослих організмів, створили передумови для розробки технологій регенеративної клітинної терапії [5–7]. Окрім фетальних клітин і тканин різного генезу найбільш перспективними серед стовбурових клітин є мультипотентні мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), які здатні перетворюватися на клітини кістки, м'язів, хряща, жиру та ін. [8, 9]. Особливу увагу при цьому привертає до себе питання про мультилінійність їх диференціовального потенціалу. Додаткові переваги у лікуванні спадкових та набутих захворювань окрім низької імуногеності МСК є їх здатність щодо спрямованої міграції до осередку запалення. Крім того, для МСК властива імуномодулююча дія, яка реалізується як за допомогою безпосереднього контакту з імунокомпетентними клітинами, так і опосередковано — через паракринну функцію з виділенням цілого ряду цитокінів: PGE<sub>2</sub>, IL10, IL6, HGF, HLA-G. Показано, що МСК дозозалежно знижують Т-клітинну проліферацію, інгібують досягання та диференціювання дендритних клітин, секрецію ефекторних Т та НК-клітин [10]. Описані процеси супроводжуються активацією супресорних Т-лімфоцитів, зниженням продукції імуноглобулінів, пригніченням функції В-лімфоцитів, а також зниженням продукції інтерферону- $\gamma$ , що у сукупності дозволяє визначити загальний ефект МСК на імунну систему як імуномодулюючий.

Джерелом МСК може бути не тільки кістковий мозок, але й жирова та м'язова тканина, шкіра, пуповина, плацента, амніотична рідина, фетальні тканини та ін. [11–13]. Нещодавно в якості доступного джерела мультипотентних МСК стали розглядати гетерогенні популяції дермальних фібробластних клітин [14].

З наведених даних витікає, що МСК мають цілий ряд унікальних біологічних характеристик, які відкривають широкі перспективи їх застосування з експериментальною та клінічною метою. Унікальний потенціал до мультилінійного диференціювання та здатність МСК чинити імунорегуляторний вплив створюють широкі можливості щодо використання даних клітин при лікуванні різних дегенеративних захворювань та імуних порушень [15–18]. В ендокринологічній практиці введення МСК плаценти дозволяло підвищити рівень інсуліну та С-пептиду, а також нормалізувати серцеву функцію у хворих на цукровий діабет [19].

Таким чином, отримані в останні роки в світових наукових центрах, а також в ДУ «Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України» дані експериментальних та клінічних досліджень показали високу ефективність використання стовбурових клітин для корегування порушень імунної та ендокринної системи, однак питання впливу клітинної терапії на процеси корегування саме тироїдних патологій, які мають аутоімунний компонент, на сьогодні не вирішені.

В ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» отримано дані експериментальних досліджень на кролях та щурах, які показали високу ефективність використання кріоконсервованих препаратів ембріофетоплацентарного комплексу — суспензії фетальних тканин та фетального тимуса людини, а також препарату плаценти для усунення морфофункціональних порушень щитоподібної залози, пов'язаних з пригніченням її функціональної активності [20–22].

Однак дані щодо комплексного підходу до лікування як безпосередньо АІТ, так і гіпотиреозу та пов'язаних з ним метаболічних розладів з використанням препаратів ембріональних стовбурових клітин, а також синтетичних модуляторів тиреоїдної функції в комплексі з позитивним впливом на процеси аутоімунної агресії у сучасній медичній літературі не зустрічаються.

Виходячи з вже встановленої виразної терапевтичної дії МСК та більшої доступності і етичності (у порівнянні з біопрепа-

ратами фетального і ембріонального походження) шляхів отримання матеріалу для їх виготовлення, актуальним є дослідження можливості корекції АІТ із застосуванням саме цього виду регенераційної терапії. Ме-

тою даної роботи було — розробити нові підходи до корекції аутоімунних розладів щитоподібної залози на підґрунті експериментальних досліджень із застосуванням стовбурових клітин.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на 60 статевозрілих самцях щурів популяції Вістар з масою тіла 220–280 г. Експериментальний АІТ викликали шляхом імунізації тварин антигеном ШЗ людини, виділеної субопераційно, в комбінації з повним ад'ювантом Фрейнда [23].

Щурам із змодельованим АІТ, після завершення імунізації вводили алогенні кріоконсервовані клітини фетальної печінки (КФП) (культура стовбурових клітин щурів популяції Вістар ISED FLC (СК-1)) або кріоконсервовані клітини фетальних мезенхімально-мезодермальних тканин (КФМТ) (культура стовбурових клітин ISED Body (СК-2)). КФП та КФМТ плодів щурів 15–16 діб гестації (виявлення сперміїв у вагінальних мазках після підсадки самиць до самців вважали першим днем вагітності) виділяли комбінованим ферментно-механічним методом в стерильних умовах. Тканини обробляли 0,25 % розчином трипсину в 0,1 М фосфатному буфері (рН = 7,4) протягом 5 хвилин при 20 °С. Після цього їх механічно дезінтегрували на одиночні клітини та фільтрували [24]. Кріоконсервування КФП та КФМТ проводили під захистом 10 % ДМСО. Клітинні суспензії відігривали безпосередньо перед введенням. Показник життєздатності (тест за виключенням барвника трипанового синього) для кріоконсервованих клітин фетальної печінки становив —  $70 \pm 5$  %, для клітин тіла —  $65 \pm 3$  %.

Кріоконсервовані суспензії КФП та КФМТ вводили щурам одноразово внутрішньовенно (інсуліновим шприцом у хвостову вену) із розрахунку  $0,5 \times 10^6$  клітин на одну тварину.

Щурів виводили з експерименту через 7 діб та 1 міс після введення фетальних клітин. В обох серіях дослідження для знежив-

лення тварин використовували метод миттєвого перерізання хребта в основі черепа під легким ефірним наркозом. Дослідження проводилися відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), схвалених II Національним конгресом з біоетики, що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) [25, 26].

Гормональні дослідження (визначення вмісту загальних та вільних форм тиреоїдних гормонів, а також антитіл (АТ) до тиреопероксидази (ТПО) і тиреоглобуліну (ТГ) проведено за допомогою стандартних комерційних тест-наборів для імуноферментного аналізу виробництва фірми «Гранум» (Україна), з використанням мікропланшетного імуноферментного аналізатора «Stat Fax 3200» (Awareness Technology inc., USA).

Отриманий в ході експериментальних досліджень цифровий матеріал обробляли методами варіаційної статистики. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою параметричних методів. Нормальність розподілу перемінних визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосовували непарний *t*-критерій Стьюдента. Дані, наведені як середнє значення  $\pm$  похибка середньої ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ). Різниця вважалася вірогідною при  $p < 0,05$ . Дані статистично оброблені із застосуванням програмного забезпечення Microsoft® Excel 2000 та програми «Біостатистика» (Primer of Biostatistics. Version 4.03 by Stanton A. Glantz) [27].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що на ранніх термінах дослідження, зокрема, через 7 діб після закінчення введення МСК, імунізація незначною мірою впливає на відносну масу ЩЗ, її зменшення на 28 % не носить вірогідного характеру. В той же час, при визначенні рівня тиреоїдних гормонів в крові щурів з АІТ виявлено значущі відмінності від інтактного контролю (ІК), що свідчить про розвиток у тварин дисфункційного стану ЩЗ, який є характерною ознакою аутоімунного ура-

ження органу (табл. 1). У тварин спостерігається значуще зростання обох фракцій тиреоїдних гормонів — як Т<sub>3</sub>, так і Т<sub>4</sub>. При цьому приріст вільних форм гормонів перевершує ступінь зростання загальних фракцій. Така невідповідність може свідчити про те, що на тлі імунізації змінюються процеси зв'язування тиреоїдних гормонів з транспортними білками, зменшуючи їх спорідненість до глобулінів та альбумінів циркулюючої крові. Таким чином, виявлено, що у щу-

Т а б л и ц я 1  
Тиреоїдний статус самців щурів з експериментальним АІТ через 7 діб після закінчення введення біопрепаратів стовбурових клітин, ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )

Показник	Група			
	Інтактний контроль, n = 5	АІТ, n = 5	СК-1, n = 5	СК-2, n = 5
Відносна маса ЩЗ, $\times 10^6$ % від ІК	11,30 $\pm$ 1,03 —	8,71 $\pm$ 0,83 -28	7,40 $\pm$ 0,66 <sup>1)</sup> -35	8,08 $\pm$ 0,78 -29
Т <sub>3</sub> заг., нмоль/л % від ІК	3,50 $\pm$ 0,29	5,94 $\pm$ 0,37 <sup>1)</sup> +69	5,90 $\pm$ 0,63 <sup>1)</sup> +68	5,14 $\pm$ 0,47 <sup>1)</sup> +47
Т <sub>3</sub> віль., пмоль/л % від ІК	3,92 $\pm$ 0,41 —	9,17 $\pm$ 0,82 <sup>1)</sup> +133	16,45 $\pm$ 1,59 <sup>1),2)</sup> +320	9,53 $\pm$ 0,84 <sup>1)</sup> +143
Т <sub>4</sub> заг., нмоль/л % від ІК	50,50 $\pm$ 4,77 —	121,00 $\pm$ 13,06 <sup>1)</sup> +142	70,01 $\pm$ 8,08 <sup>2)</sup> +39	68,80 $\pm$ 7,04 <sup>2)</sup> +36
Т <sub>4</sub> віль., пмоль/л % від ІК	11,51 $\pm$ 0,88 —	29,70 $\pm$ 3,00 <sup>1)</sup> +158	31,60 $\pm$ 4,04 <sup>1),2)</sup> +174	27,40 $\pm$ 2,17 <sup>1)</sup> +138
АТ ТПО, Од/мл % від ІК	7,30 $\pm$ 0,84 —	4,50 $\pm$ 0,45 <sup>1)</sup> -39	4,27 $\pm$ 0,41 <sup>1)</sup> -43	4,70 $\pm$ 0,29 <sup>1)</sup> -36
АТ ТГ, Од/мл % від ІК	12,50 $\pm$ 1,21 —	58,40 $\pm$ 3,92 <sup>1)</sup> +367	26,80 $\pm$ 1,92 <sup>1),2)</sup> +183	22,20 $\pm$ 2,62 <sup>1),2)</sup> +78
Т <sub>3</sub> заг./Т <sub>3</sub> віль. % від ІК	0,90 $\pm$ 0,08 —	0,65 $\pm$ 0,04 <sup>1)</sup> -28	0,36 $\pm$ 0,03 <sup>1),2)</sup> -60	0,54 $\pm$ 0,60 <sup>1)</sup> -40
Т <sub>4</sub> заг./Т <sub>4</sub> віль. % від ІК	4,40 $\pm$ 0,30 —	5,75 $\pm$ 0,33 <sup>1)</sup> +30	2,23 $\pm$ 0,17 <sup>1),2)</sup> -50	2,54 $\pm$ 0,23 <sup>1),2)</sup> -43
Т <sub>4</sub> заг./Т <sub>3</sub> заг. % від ІК	14,40 $\pm$ 1,01 —	20,37 $\pm$ 1,81 <sup>1)</sup> +41	11,81 $\pm$ 1,61 <sup>2)</sup> -18	13,50 $\pm$ 1,41 <sup>2)</sup> -6
Т <sub>4</sub> віль./Т <sub>3</sub> віль. % від ІК	2,90 $\pm$ 0,22 —	3,35 $\pm$ 0,37 +14	3,14 $\pm$ 0,29 +8	2,86 $\pm$ 0,23 -1
АТ ТГ/АТ ТПО	1,64 $\pm$ 0,18 —	12,97 $\pm$ 0,77 <sup>1)</sup> +690	6,40 $\pm$ 0,57 <sup>1),2)</sup> +300	4,70 $\pm$ 0,35 <sup>1),2)</sup> +186

П р и м і т к а. <sup>1)</sup> — значущість змін показників відносно групи відповідного інтактного контролю (ІК) ( $p < 0,05$ ); <sup>2)</sup> — значущість змін показників відносно групи відповідного АІТ контролю ( $p < 0,05$ ).

рів на ранніх термінах після закінчення імунізації розвивається маніфестний гіпертиреоз, що співпадає з клінічними дослідженнями.

Відомо, що при нормальному функціонуванні ЩЗ молекули тиреоглобуліну ізольовані від імунної системи організму, і тому на даний вид антигена у фізіологічних умовах немає імунної відповіді.

Експериментальний аутоімунний тиреоїдит у щурів виникає при підшкірному або внутрішньом'язовому введенні тваринам гомогенату тканини ЩЗ. Механізм трансмембранного переносу тиреоглобуліну шляхом ендо- та екзоцитозу передбачає наявність підвищеної спорідненості молекул тиреоглобуліну до мембран тиреоцитів, тобто, його органоспецифічність [28]. Тому, введений парентерально у складі гомогенату ЩЗ тиреоглобулін через систему циркуляції потрапляє у тиреоїдну паренхіму та абсорбується на поверхні її фолікулів, утворюючи таким чином корпускулярні аутоантигени. Імунна система піддослідних тварин сприймає їх як чужорідні та починає руйнувати, внаслідок чого в систему циркуляції потрапляють нові порції аутоантигенів і процес стає таким, що самопідтримується. При цьому імунна відповідь та гормонпродукуюча активність ЩЗ носить осцилюючий характер. Так, у роботі [29] було показано, що коливання концентрації  $T_3$  та  $T_4$  у сироватці крові мишей із змодельованим АІТ відбувається хвилеподібно, з піками, що приходилися на 14, 21 та 35 добу після індукції цієї патології та значуще (в 1,5–2 рази) перевершували контрольні величини.

Звертає на себе увагу той факт, що на тлі значущого і практично однакового, більш, ніж чотирикратного зростання в крові концентрації АТ ТГ, показник АТ ТПО зменшується більш, ніж на третину (на 39%). Такі результати співпадають із сучасними уявленнями щодо сумнівної важливості рівня цього показника як маркера розвитку АІТ [30]. Нещодавно вважали, що антитіла до ТПО є єдиними антитілами, що здатні фіксувати комплемент та викликати некроз тиреоцитів [31]. Однак натепер показано, що комплемент-опосередковану цитотоксичність відносно цих клітин можуть мати й ін-

ші антитіла, котрі є у наявності в крові хворих на АІТ. Цей факт обмежує значення показника рівня АТ ТПО як основної причини загибелі тиреоцитів. Більш того, показано, що наявність таких антитіл не корелює з функцією ЩЗ [32].

Через 7 дб після введення стовбурових клітин фетальної печінки (СК-1) та клітин, отриманих з тканин тіла ембріону (СК-2) самцям щурів з експериментальним АІТ, спостерігалась певна нормалізація параметрів, що характеризують стан функціональної активності ЩЗ, особливо в групі тварин, яким вводили біопрепарат СК-2 (див. табл. 1, рис. 1).

Під впливом біопрепаратів СК-1 та СК-2 відмічалось вірогідне, майже двократне падіння, порівняно з групою АІТ, концентрації загального  $T_4$  у сироватці крові піддослідних тварин та, більш ніж двократне зменшення показника АТ ТГ, хоча він і залишався майже вдвічі вищим від нормальних значень. Отримані дані вказують на уповільнення аутоімунної агресії в групах тварин, яким вводили МСК вже через тиждень після впливу.

Вільні форми обох тиреоїдних гормонів на тлі імунізації (як в групі АІТ-контролю, так і після введення стовбурових клітин) залишалися високими відносно даних інтактних тварин, особливо в групі введення СК-1. Показник АТ ТПО після дії біопрепаратів також не змінювався і залишався на рівні тварин з АІТ. Як було означено вище, більш збалансований ефект спостерігався після дії препарату СК-2.

Через 1 місяць спостережень щури групи АІТ-контролю вже знаходились в стані еутиреозу з ознаками гальмування тиреоїдної функції. Так, у щурів з АІТ зменшувались, нижче контрольних величин, показники загальних форм  $T_3$  та  $T_4$  та гальмувався приріст вільних фракцій цих гормонів (табл. 2). Той факт, що концентрація загальних форм  $T_3$  та  $T_4$  хоча і не має значущих відмінностей від групи інтактних тварин, має тенденцію до зниження, є свідченням переходу до наступної стадії перебігу АІТ, яка у більшості випадків закінчується гіпотиреозом. В той же час, у тварин з індукованим АІТ на тлі зниження пока-

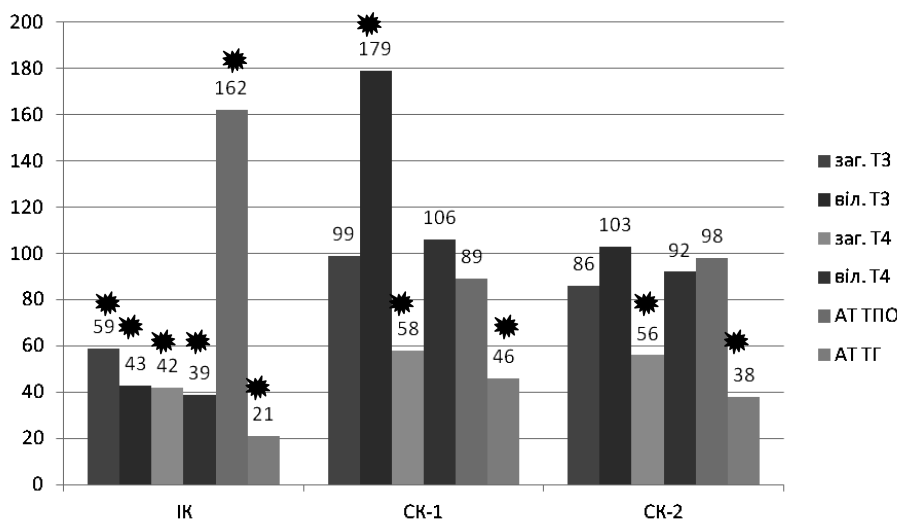


Рис. 1. Вплив стовбурових клітин на показники тиреоїдної системи самців щурів через 7 днів після введення біопрепаратів (% змін відносно АІТ-контролю).

\* — значущість змін відносно АІТ-контролю.

зника рівня загального Т<sub>3</sub>, вільна форма цього гормону зберігається вірогідно вищою ніж у інтактних щурів. Таке зростання вільної фракції Т<sub>3</sub> з одного боку можна розглядати як порушення у ланці зв'язування з транспортними білками, з другого боку — як компенсаторний механізм що забезпечує необхідний гормональний фон на тлі ймовірного початку гальмування функціональної активності ЩЗ. Рівень АТ ТПО у цих тварин відносно групи інтактного контролю практично не змінювався. При цьому зберігалось значне зростання кількості АТ ТГ,

хоча і у меншому ступені, ніж на терміні спостережень 7 днів, що вказує на тривалі аутоімунні процеси в ЩЗ.

Дія обох біопрепаратів МСК призводить до стимуляції гормонотворення Т<sub>4</sub> та Т<sub>3</sub> у порівнянні як з інтактним контролем, так і з АІТ-контролем (див. табл. 2, рис. 2).

Тобто можна казати, що МСК безпосередньо впливають на тиреоїдну паренхіму, відновлюючи її функціональну активність і тим самим запобігаючи розвитку гіпофункції залози. Однак, рівень АТ ТГ, основного маркера інтенсивності аутоімунних процесів

Таблиця 2  
Тиреоїдний статус самців щурів з експериментальним АІТ через 1 місяць після закінчення введення біопрепаратів стовбурових клітин, ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )

Показник	Група			
	Інтактний контроль, n = 5	АІТ, n = 5	СК-1, n = 5	СК-2, n = 5
1	2	3	4	5
Відносна маса ЩЗ, $\times 10^6$ % від ІК	10,42 $\pm$ 0,70 —	8,81 $\pm$ 0,86 -16	13,81 $\pm$ 1,03 <sup>2)</sup> +32	8,58 $\pm$ 0,78 -18
Т <sub>3</sub> заг., нмоль/л % від ІК	2,50 $\pm$ 0,19 —	1,74 $\pm$ 0,18 -30	3,50 $\pm$ 0,28 <sup>1)</sup> +40	2,34 $\pm$ 0,21 <sup>2)</sup> -6

Початок. Закінчення на наст. стор.



Т а б л и ц я 2, закінчення

1	2	3	4	5
T <sub>3</sub> віль., пмоль/л % від ІК	5,03 ± 0,39 —	7,87 ± 0,81 <sup>1)</sup> +56	7,80 ± 0,80 <sup>1)</sup> +56	6,05 ± 0,58 +20
T <sub>4</sub> заг., нмоль/л % від ІК	94,41 ± 7,79 —	76,00 ± 6,34 -20	102,12 ± 11,2 <sup>2)</sup> +8	97,16 ± 8,24 <sup>2)</sup> +3
T <sub>4</sub> віль., пмоль/л % від ІК	20,50 ± 1,57 —	23,04 ± 3,04 +12	33,20 ± 3,07 <sup>1),2)</sup> +62	25,25 ± 2,07 +23
АТ ТПО, Од/мл % від ІК	5,50 ± 0,44 —	5,00 ± 0,48 -10	7,45 ± 0,69 <sup>2)</sup> +34	6,03 ± 0,59 +10
АТ ТГ, Од/мл % від ІК	38,30 ± 3,26 —	72,60 ± 5,74 <sup>1)</sup> +89	73,32 ± 5,68 <sup>1)</sup> +91	66,13 ± 5,70 <sup>1)</sup> +73
T <sub>3</sub> заг./T <sub>3</sub> віль. % від ІК	0,30 ± 0,04 —	0,22 ± 0,01 -27	0,45 ± 0,03 <sup>1),2)</sup> +50	0,38 ± 0,03 <sup>2)</sup> +27
T <sub>4</sub> заг./T <sub>4</sub> віль. % від ІК	4,60 ± 0,46 —	3,30 ± 0,29 <sup>1)</sup> -28	3,07 ± 0,30 -33	3,85 ± 0,27 -16
T <sub>4</sub> заг./T <sub>3</sub> заг. % від ІК	37,76 ± 4,04 —	44,70 ± 3,86 <sup>1)</sup> +18	29,24 ± 1,83 <sup>1),2)</sup> -23	41,15 ± 4,86 <sup>1)</sup> +8
T <sub>4</sub> віль./T <sub>3</sub> віль. % від ІК	4,10 ± 0,29 —	2,95 ± 0,31 <sup>1)</sup> -28	4,26 ± 0,50 +4	4,17 ± 0,39 <sup>2)</sup> +2
АТ ТГ/АТ ТПО	6,96 ± 0,84 —	14,50 ± 1,08 +108	9,89 ± 0,72 <sup>2)</sup> +42	10,96 ± 0,89 +57

П р и м і т к а. <sup>1)</sup> — значущість змін показників відносно групи відповідного інтактного контролю (ІК) ( $p < 0,05$ ); <sup>2)</sup> — значущість змін показників відносно групи відповідного АІТ контролю ( $p < 0,05$ ).

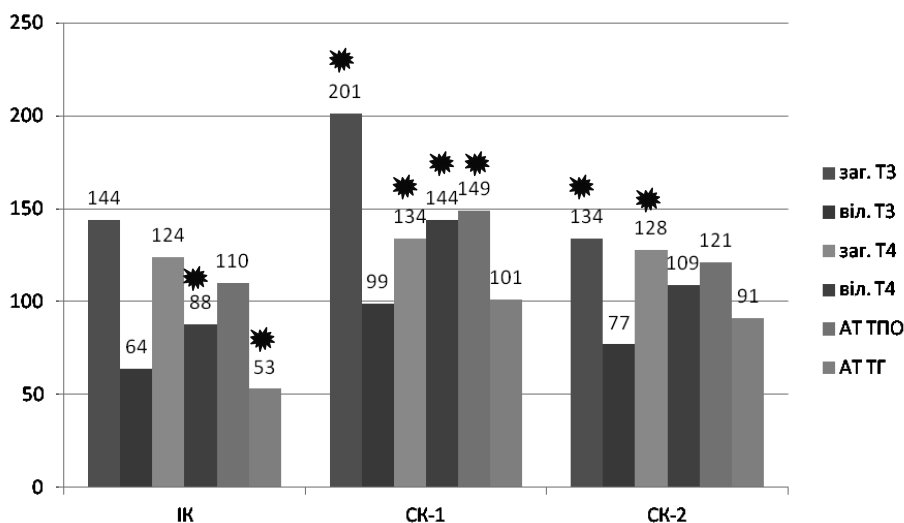


Рис. 2. Вплив стовбурових клітин на показники тиреоїдної системи самців щурів через 1 місяць після введення біопрепаратів (% змін відносно АІТ-контролю).

\* — значущість змін відносно АІТ-контролю.

в ЩЗ щурів, у тварин, яким вводили МСК, залишається практично не зміненим. Цей

факт вказує на значну стабільність процесів аутоімунної агресії у ЩЗ і на цьому термі-

ні спостережень. СК-1, виділені з фетальної печінки, виразно стимулюють процеси утворення загальних форм тиреоїдних гормонів і в той же час потенціюють зростання їх вільних фракцій до значень, що перевершують дані, отримані в групі інтактних тварин. Введення препарату СК-2 значною мірою нормалізує проаналізовані показники у порівнянні з групою АІТ-контролю. На відміну від дії СК-1, як і через 7 діб, препарат СК-2 більш «м'яко» та збалансовано вирівнює і нормалізує тиреоїдний профіль та ефективніше впливає на рівень АТТГ у сироватці крові. Можна припустити, що

в цій групі тварин розпочинаються процеси гальмування аутоімунного руйнування тиреоїдної паренхіми.

Таким чином, хоча у динаміці експерименту під впливом МСК на ранніх етапах дослідження і спостерігаються позитивні зміни у тиреоїдній системі, її повної нормалізації на терміні від 7 діб до 1 місяця все ж не відбувається.

Результати спостережень віддалених наслідків впливу стовбурових клітин на функціональну активність ЩЗ та стан тиреоїдної системи будуть представлені у подальших публікаціях.

## ВИСНОВКИ

1. Моделювання АІТ у щурів популяції Вістар шляхом імунізації антигеном щитоподібної залози в комбінації з повним ад'ювантом Фрейнда призводить до значних порушень структури і функції щитоподібної залози. Адекватність даної моделі підтверджується результатами гормональних, гістологічних та імунологічних досліджень.
2. На ранніх термінах дослідження після введення СК-1 та СК-2 відмічається зниження вмісту АТТГ у сироватці крові. Паралельно спостерігається нормалізація рівня загального Т<sub>4</sub>, що вказує на відновлення функції щитоподібної залози.
3. З МСК більш ефективним є застосування СК-2, виділених з кріоконсервованих фетальних мезенхімально-мезодермальних тканин. Їх дія на структуру і функцію щитоподібної залози з АІТ-патологією у порівнянні з СК-1 носить більш збалансований характер. Використання терапії стовбуровими клітинами є перспективним напрямком для корекції патологій щитоподібної залози.

## ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Hirshi KK, Li S, Rou K. *Annu Rev Biomed Eng* 2014; 16:277-294.[doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-105108](https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-105108)
2. Farkas G, Degi R, Voros P. *Transplant Proc* 1995; 10:3145.
3. Mahowald M. *Clin Res* 1988; 2:220-222.
4. Gimble JM, Katz J, Bunnell BA. *Circ Res* 2007; 100(9):1249-1260.[doi.org/10.1161/01.RES.0000265074.83288.09](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000265074.83288.09)
5. Kuharchuk AL, Radchenko VV, Sirman VM. *Stvolovye kletki: jeksperiment, teorija, klinika. Jembrional'nye, mezenhimal'nye, nejrjal'nye i gemopojeticheskie stvolovye kletki, Chernovcy*, 2004: 505 p.
6. Lobynceva GS. *Trasplantologija* 2007; 9:166-172.
7. Petrenko AJu. *Problemy Kriobiologii* 2005; 15(3): 323-326.
8. Petrenko AJu, Petrenko JuA, Skorobogatova NG, et al. *Transplantologija* 2008; 10(1):84-86.
9. Caplan AI, Dennis AI. *J Cell Biochem* 2006; 98:1076-1084.[doi.org/10.1002/jcb.20886](https://doi.org/10.1002/jcb.20886)
10. Kastro-Manrreza ME, Montesinas JJ. *J Immunol Res* 2015; [doi: 10.1155/2015/394917](https://doi.org/10.1155/2015/394917).
11. Cordeiro-Spinetti E, de Mello W, Trindade LS, et al. *Front Cell Develop Biol* 2014; 2(2):1-8.
12. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. *Mol Biol Cell* 2002; 13(12):4279-4295.[doi.org/10.1091/nbc.E02-02-0105](https://doi.org/10.1091/nbc.E02-02-0105)
13. Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. *Expert Opinion Biol Ther* 2010; 10(400):505-517.
14. Bartsch G, Yoo JJ, De Coppi P, et al. *Stem Cells Devel* 2005; 14(3):337-348.[doi.org/10.1089/scd.2005.14.337](https://doi.org/10.1089/scd.2005.14.337)



15. Uccelli A, Prockop DJ. *Curr Opin Immunol* 2010; 22(6):1417-1426.[doi.org/10.1016/j.coi.2010.10.012](https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.10.012)
16. Parrekkadan B, Milwid JM. *Ann Rev Biometric* 2010; 12:87-117.
17. Carrion F, Nova E, Ruiz C, et al. *Lupus* 2010; 19(3):317-322.[doi.org/10.1177/0961203309348983](https://doi.org/10.1177/0961203309348983)
18. Nayan M, Paul A, Chen G, et al. *J Tis Engineer* 2011; 2011:741213.
19. Jiang R, Han Z, Zhuo G, et al. *Front Med* 2011; 5(1):94-100.[doi.org/10.1007/s11684-011-0116-z](https://doi.org/10.1007/s11684-011-0116-z)
20. Malova NG, TJurchenko M, Bozhko TS, et al. *Problemy Kriobiologii* 2007; 17(3):290-297.
21. Malova NG, Jurchenko TM, Bozhko TS, et al. *Problemy Kriobiologii* 2007; 17(4):403-409.
22. Malova NG, Bozhko TS, Komarova IV, Taranova KS. Fundamental'na ta klinichna endokrynologija: problemy, zdobutky, perspektyvy (Vos'mi Danylevs'ki chytannja): materialy nauk-prakt. konf. z mizhnar. uchastju, *Harkiv*, 2009:80-81.
23. Doklinichni doslidzhenja likars'kyh zasobiv: metodychni rekomendacii; za red. Stefanova OV, *Kyiv*, 2001: 528 p.
24. Petrenko AYu, Sukach AN. *Analytical Biochem* 1991; 194(2):326-329.[doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90236-M](https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90236-M)
25. Zagal'ni etychni pryncypy eksperymentiv na tvarynah, *Endokrynologija*, 2003; 3(1):142-145.
26. Second National Congress of Bioethics: abstract, *Kyiv*, 2004: 303 p.
27. Glanc C. Mediko-biologicheskaja statistika, *Moskva*, 1998: 459 p.
28. Radetti G. *Pediatr Thyroidol Endocr Rev Basel* 2014; 26:158-170.
29. Gladkyh DP. Teoretychne j eksperymental'ne modeljuvannja likuval'noi' dii' natyvnyh i kriokonservovanyh produktiv fetoplacentarnogo kompleksu pry avtoimmunomu tyreoi'diti, *Harkiv*, 2010: 16 p.
30. Nordyke RA, Gilbert FJ, Miyamoto LD. *Arch Int Med* 1993; 153(7):862-865.[doi.org/10.1001/archinte.153.7.862](https://doi.org/10.1001/archinte.153.7.862)
31. Kandor VI. *Problemy Jendokrinologii* 2002; 48(1):45-49.
32. Fldkm J. *Dtsch Med Whnshr* 2009; 134:2504-2509.[doi.org/10.1055/s-0029-1243053](https://doi.org/10.1055/s-0029-1243053)

## ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АУТОІМУННИМ ТИРЕОЇДИТОМ НА РАННІХ ТЕРМІНАХ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ АЛОГЕННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФЕТАЛЬНИХ КЛІТИН

Малова Н. Г., Комарова І. В., Сиротенко Л. А., Аникеева К. С.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків  
[n.g.malova@jandex.ua](mailto:n.g.malova@jandex.ua); [komarova2007@list.ru](mailto:komarova2007@list.ru)

В роботі проведено вивчення ефекту мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) на тиреоїдну систему щурів з індукованим аутоїмунним тиреоїдитом (АІТ). Показано, що моделювання АІТ у щурів призводить до значних порушень структури і функції щитоподібної залози. Визначено, що на ранніх строках дослідження МСК безпосередньо впливають на тиреоїдну паренхіму, відновлюючи її функціональну активність і запобігаючи розвитку гіпофункції залози. Рівень АТ ТГ, основного маркера інтенсивності аутоїмунних процесів в щитовидній залозі щурів, залишається підвищеним, що вказує на значну стабільність процесів аутоїмунної агресії. Тобто, у динаміці експерименту під впливом МСК на терміні спостережень від 7 днів до 1 місяця відзначаються позитивні зміни у тиреоїдній системі, але її повної нормалізації не відбувається. Зроблено висновок, що використання терапії стовбуровими клітинами є перспективним напрямком для корекції патологій щитоподібної залози.

**К л ю ч о в і с л о в а:** аутоїмунні процеси, тиреоїдна система, терапія стовбуровими клітинами.

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ НА РАННИХ СРОКАХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Малова Н. Г., Комарова И. В., Сиротенко Л. А., Аникеева К. С.

*ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,  
г. Харьков  
n.g.malova@jandex.ua; komarova2007@list.ru*

В работе проведено изучение эффекта применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на тиреоидную систему крыс с индуцированным аутоиммунным тиреоидитом (АИТ). Показано, что моделирование АИТ у крыс приводит к значительным нарушениям структуры и функции щитовидной железы. Определено, что на ранних сроках исследования МСК непосредственно влияют на тиреоидную паренхиму, возобновляя ее функциональную активность и препятствуя развитию гипофункции железы. Уровни АТ ТГ, основного маркера интенсивности аутоиммунных процессов в щитовидной железе, остаются повышенными, что может свидетельствовать о стабильности процессов аутоиммунной агрессии. В динамике эксперимента под воздействием МСК сроком от 7 дней до 1 месяца отмечаются положительные сдвиги, однако полного восстановления не происходит. Сделан вывод, что терапевтическое использование стволовых клеток является перспективным направлением для коррекции патологий щитовидной железы.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** аутоиммунные процессы, тиреоидная система, терапия стволовыми клетками.

## RAT'S THYROID GLAND WITH EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE THYROIDIT FUNKTIONAL ACTIVITY ON EARLY TERMS AFTER INTRODUCTION KRYO CANNED FETAL STEM CELLS

N. G. Malova, I. V. Komarova, L. A. Syrotenko, K. S. Anikeeva

*SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv  
n.g.malova@jandex.ua; komarova2007@list.ru*

In work was studying the effect of application the mezenkhimal stem cells (MSC) on thyroid system of rats with the induced autoimmune thyroiditis (AIT) is carried out. It was shown that the AIT modeling in rats leads to considerable violations of structure and the thyroid gland (ThG) function. It was defined that on early terms of research MSC directly influence a thyroid parenchyma, renewing its functional activity and preventing from gland hypofunction development. The AB TG levels, the main marker of intensity of autoimmune processes in ThG, remained raised, that can be evidence of autoimmune aggression processes stability. That is, in dynamics of experiment under influence MSC on the term of 7 days — 1 month positive progress are noted, however the complete recovery doesn't occur. It was conclusion, that therapy by stem cells is the perspective direction for pathologies of ThG correction.

**К e y w o r d s:** autoimmune processes, thyriod system, therapy by stem cells.