

# ВНУТРІШНІ ХВОРОБИ

УДК 616.61-002+632.938+615.832.98

DOI <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.70.6>

**Гладких Федір Володимирович,**  
доктор філософії в галузі охорона здоров'я за спеціальністю «Медицина»,  
старший науковий співробітник  
Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва  
Національної академії медичних наук України»;  
докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології  
медичного факультету,  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
Міністерства освіти і науки України  
[fedir.hladykh@gmail.com](mailto:fedir.hladykh@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>  
м. Харків, Україна

## Оцінка рівня простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів

**Вступ.** Захворювання нирок яке характеризується відкладення імунних комплексів на базальній мембрані клубочка має назву мембранозна нефропатія (МН). Хоча кінцевою метою лікування цього органоспецифічного аутоімунного захворювання є припинення імунної відповіді на PLA2R або інші антигени подоцитів, повільне зниження титрів циркулюючих антитіл після лікування ставить подоцити під загрозу подальшого пошкодження. У якості потенційних засобів для лікування хворих на МН нашу увагу привернули безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби (БКБЗ), зокрема – кріоекстракт плаценти (КЕП), кріоекстракт селезінки (КЕС) та кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК). **Мету дослідження** – охарактеризувати рівень простагландину (ПГ) E2, тромбоксану (Тх) B2 та лейкотрієну (ЛТ) B4 у нирках шурів при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів. **Матеріали та методи.** Аутоімунний нефрит (АІН) відтворювали за методикою Neumann W.R. та співав. Дослідження ефективності БКБЗ при АІН проведені на 42 шурах-самцях. На 70 день експерименту шурів виводили з експерименту та екстирпували нирки. Для отримання гомогенату нирки промивали холодним (+4°C) ізотонічним 1,15 % розчином КСІ та гомогенізували. Вміст ПГЕ2, ЛТВ4 та ТхВ2 визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (Neogen Corporation, США). **Результати досліджень та їх обговорення.** Експериментальні дослідження показали, що у шурів на тлі розвитку АІН відбувається кратне зростання вмісту досліджуваних ейкозаноїдів у тканині нирок. Застосування референс-препарату канефрону викликало зниження вмісту досліджуваних ейкозаноїдів у тканинах нирок шурів з АІН на 19,0–23,6 % в середньому. На тлі введення досліджуваних БКБЗ найвиразніші зміни відмічено з боку вмісту ЛТВ4. Оцінка рівня ТхВ2 у нирках шурів з АІН на тлі введення БКБЗ показала, що зазначений ейкозаноїд найвиразніше знизився ( $p < 0,001$ ) на тлі застосування КС-МСК (44,4%). Введення КЕС та КЕП призвело до співставного зниження рівня ПГЕ2 у тканинах нирок шурів з АІН відповідно на 26,4% ( $p < 0,001$ ) та на 26,7% ( $p < 0,001$ ). **Висновки.** На тлі введення КЕП вміст ЛТВ4 у шурів з АІН знизився ( $p = 0,005$ ) на 42,9%. Оцінка вмісту ПГЕ2 у тканинах нирок шурів з АІН показала, що найвиразніше вказаний показник знизився ( $p < 0,001$ ) на тлі введення КС-МСК (43,5%). Вміст ТхВ2 аналогічно найвиразніше знизився ( $p < 0,001$ ) на тлі застосування КС-МСК (44,4%).

**Ключові слова:** безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби, аутоімунні захворювання, кріоекстракт селезінки, кріоекстракт плаценти, кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин, мембранозна нефропатія.

**Hladykh Fedir Volodymyrovych**, PhD in Health Care (Medicine), Senior Research Fellow of the State Organization “Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”; Doctoral student of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the Faculty of Medicine of the V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, [fedir.hladykh@gmail.com](mailto:fedir.hladykh@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, Kharkiv, Ukraine

## Evaluation of the level of prostaglandin E2, thromboxane B2 and leukotriene B4 in kidneys in simulated Hayman's nephritis under the influence of cell-free cryopreserved biological agents

**Introduction.** A kidney disease characterized by the deposition of immune complexes on the glomerular basement membrane is called membranous nephropathy (MN). Although the ultimate goal of treatment for this organ-specific autoimmune disease is to terminate the immune response to PLA2R or other podocyte antigens, the slow decline in circulating antibody titers after treatment puts podocytes at risk of further damage. Cell-free cryopreserved biological agents (CFCBA), in particular, cryopreserved placental extract (CEP), spleen cryoextract (CES) and conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM) attracted our attention as potential means for the treatment of patients with MN. **The purpose of the study** is to characterize the level of prostaglandin (Pg) E2, thromboxane (Tx) B2 and leukotriene (LT) B4

in the kidneys of rats with simulated Heyman's nephritis under the influence of cell-free cryopreserved biological agents. **Materials and methods.** Autoimmune nephritis (AIN) was reproduced according to the method of Heymann W.R. and sang Research on the effectiveness of CFCBA in AIN was conducted on 42 male sheep. On the 70-th day of the experiment, the rats were removed from the experiment and the kidneys were excised. To obtain a homogenate, the kidneys were washed with cold (+4°C) isotonic 1.15% KCl solution and homogenized. The content of PgE2, LTB4 and TxB2 was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay method using standard kits for enzyme-linked immunosorbent assay (Neogen Corporation, USA). **Research results and their discussion.** Experimental studies have shown that in rats, against the background of the development of AIN, there is a multiple increase in the content of eicosanoids in the kidney tissue. The use of the reference drug canefron caused a decrease in the content of the studied eicosanoids in the kidney tissues of rats with AIN by 19.0–23.6% on average. Against the background of the introduction of the investigated CFCBA, the most pronounced changes were noted from the side of LTB4 content. The evaluation of the level of TxB2 in the kidneys of rats with AIN against the background of CFCBA administration showed that the specified eicosanoid decreased most significantly ( $p < 0.001$ ) against the background of MSC-CM application (44.4%). The introduction of CES and CEP led to a relative decrease in the level of PgE2 in the kidney tissues of rats with AIN by 26.4% ( $p < 0.001$ ) and 26.7% ( $p < 0.001$ ), respectively. **Conclusions.** Against the background of the introduction of CEP, the content of LTB4 in rats with AIN decreased ( $p = 0.005$ ) by 42.9%. The assessment of the PgE2 content in the kidney tissues of rats with AIN showed that the most clearly indicated indicator decreased ( $p < 0.001$ ) against the background of the introduction of MSC-CM (43.5%). Similarly, the content of TxB2 decreased most significantly ( $p < 0.001$ ) against the background of the use of MSC-CM (44.4%).

**Key words:** cell-free cryopreserved biological agents, autoimmune diseases, spleen cryoextract, placenta cryoextract, mesenchymal stem cell conditioned medium, membranous nephropathy.

**Вступ.** Добре відомо, що нирка людини містить близько мільйона клубочків, які складаються з пучка капілярних петель, що підтримуються мезангієм та розміщуються у мішкоподібному розширенні ниркового каналця нефрона, відомого як капсула Боумена-Шумляньського. Клубочок складається з чотирьох типів резидентних клітин: мезангіальних, ендотеліальних, вісцеральних епітеліальних клітин (подоцитів) та парієтальних епітеліальних клітин, що вистилають зовнішню поверхню базальної мембрани капсули. Останні експериментальні та клінічні досягнення визначили подоцит як цільову клітину-мішень при захворюваннях клубочків, характерними ознаками яких є важка протеїнурія [1]. Варто зазначити, що кожен подоцит пов'язаний з більш ніж однією артеріолою, і кожна артеріола покрита більш ніж одним подоцитом.

Відростки подоцитів містять скоротливий апарат, що включає актин, міозин, актинін, талін, вінкулін та віментин, який протидіє гемодинамічним силам клубочкових капілярів [2]. Подоцити, будучи високоспеціалізованими епітеліальними клітинами клубочка, мають важливе значення для селективної проникності бар'єру клубочкової фільтрації, допомагаючи гарантувати, що цінні молекули, такі як білки, залишаються в крові [3].

Захворювання клубочків, яке гістопатологічно визначається за наявністю дифузного потовщення стінки клубочкового капіляра при світловій мікроскопії в результаті відкладення імунних комплексів на екстракапілярній стороні базальної мембрани клубочка отримало назву мембранозна нефропатія (МН). Імунні відкладення містять фракцію комплементу С3 та імуноглобуліну G4, які виглядають як електронно-щільні субепітеліальні відкладення під час електронної мікроскопії [4].

МН є рідкісним захворюванням – у західному світі її поширеність оцінюється в 1,2 випадки на 100 тис. осіб на рік [5]. Клінічна картина складається з нефротичного синдрому або безсимптомної протеїнурії, і, хоча МН може виникати в будь-якій віковій групі, вона рідко зустрічається у дітей і переважає у дорослих старше 50 років [6].

Існує кілька потенційних механізмів, за допомогою яких субепітеліальні імунні відкладення можуть призводити до МН. Внутрішній клубочковий антиген,

розташований на ніжці відростка подоцита, може служити антигеном-мішенню для циркулюючих антитіл і призводити до відкладення імунних відкладень *in situ*. Дослідження виявили, що рецептор фосфоліпази A<sub>2</sub> М-типу (PLA2R) є основним цільовим антигеном при первинній МН [7].

Циркулюючі імунні комплекси, як правило, не створюють субепітеліальних відкладень і не викликають МН, але певні фізико-хімічні властивості комплексу можуть дозволити субепітеліальним відкладенням дисоціювати та фіксуватись під подоцитами [8, 9, 10].

Хоча кінцевою метою лікування цього органоспецифічного аутоімунного захворювання є припинення імунної відповіді на PLA2R або інші антигени подоцитів, повільне зниження титрів циркулюючих антитіл після лікування [11] ставить подоцити під загрозу подальшого пошкодження. Тому важливо розробити стратегії переривання ефекторних механізмів анти-PLA2R до настання імунологічної ремісії (рис. 1) [10].

Це може приймати форму інгібування комплементу новими поколіннями інгібіторів комплементу або активації клітинних шляхів, уражених антитілами та/або опосередкованим комплементом пошкодженням подоцитів [12]. Оптимальною і найменш токсичною терапією такого захворювання, як МН, є прицільна делеція В-клітин і плазматичних клітин, що продукують патогенні антитіла, проте може пройти досить багато часу, перш ніж така таргетна терапія стане доступною для клінічного застосування [10].

У якості потенційних засобів для лікування хворих на МН нашу увагу привернули безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби (БКБЗ), зокрема – кріоекстракт плаценти (КЕП), кріоекстракт селезінки (КЕС) та кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК). Заданими цілювими досліджень [13, 14, 15, 16] БКБЗ притаманний цілий комплекс цінних фармакологічних властивостей, які можуть чинити органопротективну дію при аутоімунних захворюваннях.

**Мета дослідження** – охарактеризувати рівень простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у нирках щурів при змодельованому нефриті Хеймана під впливом безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів.

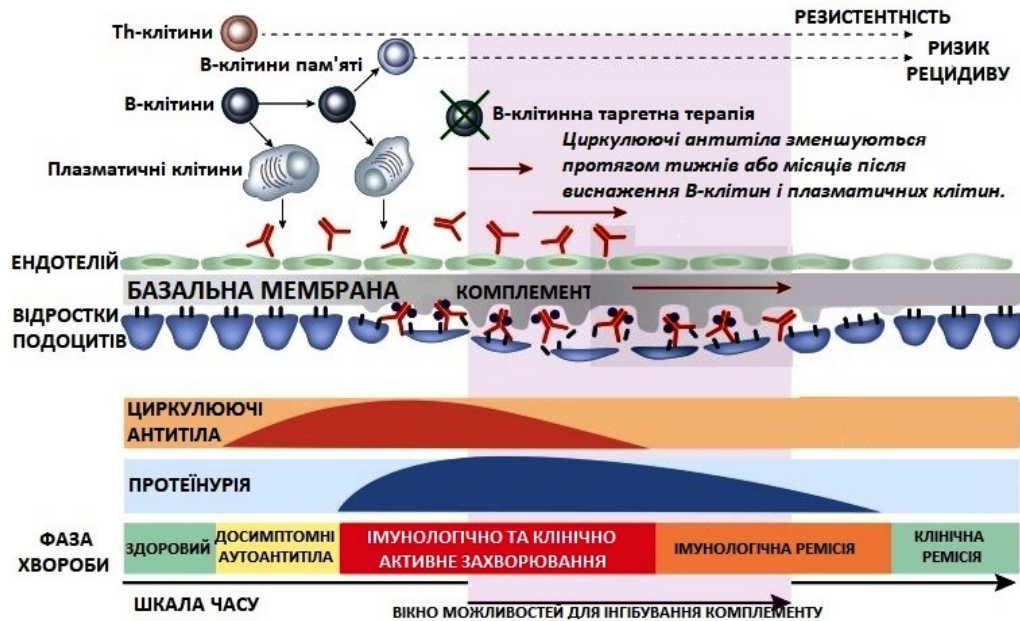


Рис. 1. Активізація комплементу та фази МН (адаптовано за [Kistler AD])

**Матеріали та методи дослідження.** Аутоімунний нефрит Хеймана (АІН) відтворювали за методикою *Heumann W.R. та співав.* [17, 19] у модифікації, шляхом введення щурам нефротропної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванта Фрейнда (ПАФ, *Thermo Fisher Scientific, США*) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної тканини нирок у співвідношенні 1:1 [18, 19, 20, 21]. Нирковий антиген виготовляли з коркового шару нирок у вигляді 20,0 % гомогенату, до якого додавали антибіотик амікацин у дозі 2000 ОД/мл з метою запобігання розвитку інфекції. ПАФ та нирковий антиген змішували безпосередньо перед використанням. Отриману суміш вводили тваринам у дозі 7,4 мл/кг в рівній кількості у п'ять ділянок тіла – підшкірно (п/ш) в пахові та пахові ділянки, а також внутрішньоочеревинно (в/о). Через 4 тижні з метою потенціювання аутоімунного процесу введення нефротропної антигенної суміші повторювали в/о [22, 23, 24, 25].

Досліджувані препарати вводили щурам з 60 доби експерименту [19]. БКБЗ вводили внутрішньом'язово (в/м), з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту. В якості референс-препарату обрано комбінований рослинний лікарський засіб з нефропротекторною активністю – канефрон («Канефрон® Н», *Біонорика СЕ, Німеччина*), що містить стандартизований екстракт ВНО-1040 з трави золототисячнику (*Herbae Centaurii*), кореня любистку (*Radix Levistici*) та листя розмарину (*Folium Rosmarini*) [26, 27]. Канефрон вводили внутрішньощлунково (в/шл) на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в дозі 27 мг/кг [28, 29], розрахованої методом Ю.Р. Риболовлева [30].

Експериментальні дослідження проведені у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.), Дирек-

тиви 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.).

Дослідження ефективності БКБЗ при АІН проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;

II – щури зі змодельованим АІН (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг;

III – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/шл вводили референс-препарат канефрон в дозі 27 мг/кг [28];

IV – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [31];

V – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [32];

VI – щури зі змодельованим АІН (n=7), яким на 60, 62, 64, 66 та 68 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [33, 34].

На 70 день експерименту щурів виводили з експерименту та екстипували нирки. Для отримання гомо-

генату нирки промивали холодним (+4°C) ізотонічним 1,15 % розчином KCl та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15 % розчину KCl), отримуючи 10,0 % гомогенат. Постядерний супернатант отримували шляхом центрифугування гомогенату впродовж 30 хв при 600 g з подальшим відбором аліквот у мікропробірки «Eppendorf». Депротейнізований екстракт отримували додаванням до гомогенату тканини трихлортової кислоти (0,6 M) з подальшою нейтралізацією 5,0 M калію карбонатом.

**Вміст ПГ E2, ЛТ B4 та Тх B2** визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу (Neogen Corporation, США). E2 – ELISA Kit-404110, Тх B2 – ELISA Kit 405110, ЛТ B4 – ELISA Kit 406110. Об'єкт дослідження та одиниці вимірювання: гомогенат біологічної тканини – пг/мг білка.

**Статистичну обробку** одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel». Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілка. Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена. При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. 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), де 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна-Уїтні (Mann-Whitney). 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.** Експериментальні дослідження показали, що у щурів на тлі розвитку АІН відбувається кратно зростання вмісту ейкозаноїдів у тканині нирок. Встановлено, що рівень простагландину (ПГ) E2 у тканинах нирок щурів з АІН статистично вірогідно (p<0,001) зріс у 2,9 рази відносно показників інтактних щурів та становив 268,6±8,1 (95 % ДІ: 286,6–314,5) пг/мг білка (табл. 1). Вміст тромбоксану B2 (ТхB2) у тканинах нирок щурів з АІН зріс у 5,5 рази (p<0,001), а найбільше зростання серед досліджуваних ейкозаноїдів відмічено з боку лейкотрієну B4 (ЛТВ4) – вказаний показник зріс у 10,5 разів (p<0,001) та становив 21 [17; 24] пг/мг білка (див. табл. 1).

Встановлене зростання вмісту ПГЕ2, ТхB2 та ЛТВ4 за даними літератури можуть бути обумовлені активацією фосфоліпази та протеїнкінази в епітеліальних клітинах клубочків під впливом комлементу [36, 37].

Застосування референс-препарату канефрону викликало зниження вмісту досліджуваних ейкозаноїдів у тканинах нирок щурів з АІН на 19,0–23,6 % в середньому. Статистично вірогідне (p=0,002) зниження відмічено лише з боку ПГЕ2 – вказаний показник знизився на 23,6 % відносно показників нелікованих щурів (див. табл. 1).

На тлі введення досліджуваних БКБЗ найвиразніші зміни відмічено з боку вмісту ЛТВ4. Так на тлі введення КЕП вміст ЛТВ4 у щурів з АІН знизився (p=0,005) на 42,9%, на тлі введення КЕС – знизився (p=0,01) на 33,3%, а на тлі введення КС-МСК – знизився (p<0,01) на 61,9% (див. табл. 1).

Оцінка рівня ТхB2 у нирках щурів з АІН на тлі введення БКБЗ показала, що зазначений ейкозаноїд найвиразніше знизився (p<0,001) на тлі застосування КС-МСК (44,4%). На тлі ведення досліджуваних кріоекстрактів рівень ТхB2 знизився на 26,4% (p<0,008) та

Таблиця 1

**Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та канефрону на вміст простагландину E2, тромбоксану B2 та лейкотрієну B4 у тканинах нирок щурів з АІН на 70 день експерименту, пг/мг білка (M ± m (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n=42)**

| Досліджуваний показник, одиниці вимірювання | Умови експерименту            |   |   |  |  |  |
|---|-------------------------------|---|---|--|--|--|
|   | I (1) група                   | II (2) група  | III (3) група   | IV (4) група   | V (5) група  | VI (6) група   |
|   | Інтактні щури                 | Контроль (АІН без лікування)                                    | АІН + канефрон  | АІН + КЕП  | АІН + КЕС  | АІН + КС-МСК   |
| <i>n</i>                                    | 7                             | 7   | 7   | 7  | 7  | 7  |
| Простагландин E2, пг/мг білка               | 92,7±3,6 (95 % ДІ: 85,7–99,7) | 268,6±8,1 (95 % ДІ: 286,6–314,5) p <sub>1</sub> <0,001 [222,0%] | 228,0±15,9 (95 % ДІ: 196,8–259,2) p <sub>2</sub> =0,002 [23,6%] | 219,7±13,2 (95 % ДІ: 193,9–245,5) p <sub>2</sub> <0,001 [26,4%] p <sub>3</sub> =0,7 [3,6%] | 218,9±11,4 (95 % ДІ: 196,6–241,1) p <sub>2</sub> <0,001 [26,7%] p <sub>3</sub> =0,7 [0,1%] | 168,6±10,6 (95 % ДІ: 147,9–189,3) p <sub>2</sub> <0,001 [43,5%] p <sub>3</sub> <0,01 [23,3%] |
| Тромбоксан B2, пг/мг білка                  | 13 [8,5; 13,0]                | 72 [58; 75] p <sub>1</sub> <0,001 [453,8%]                      | 61 [57; 63] p <sub>2</sub> <0,1 [15,3%]                         | 53 [49; 57] p <sub>2</sub> <0,008 [26,4%] p <sub>3</sub> <0,03 [13,1%]                     | 56 [51; 65] p <sub>2</sub> <0,04 [22,2%] p <sub>3</sub> =0,17 [8,2%]                       | 40 [30; 45] p <sub>2</sub> <0,001 [44,4%] p <sub>3</sub> <0,001 [34,4%]                      |
| Лейкотрієн B4, пг/мг білка                  | 2 [2; 3]                      | 21 [17; 24] p <sub>1</sub> <0,001 [950,0%]                      | 17 [14; 20] p <sub>2</sub> =0,1 [19,0%]                         | 12 [10; 14] p <sub>2</sub> =0,005 [42,9%] p <sub>3</sub> =0,02 [29,4%]                     | 14 [13; 14] p <sub>2</sub> =0,01 [33,3%] p <sub>3</sub> =0,08 [17,6%]                      | 8 [6; 9] p <sub>2</sub> <0,01 [61,9%] p <sub>3</sub> <0,01 [33,3%]                           |

Примітки: p<sub>1</sub> – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників; [%] – значення розбіжностей показників у відсотках; Індексами <sub>1,2,3</sub> вказано номер групи, з показниками якої проведено зрівняння.

на 22,2% ( $p < 0,04$ ) відповідно при введенні КЕП та при введенні КЕС (див. табл. 1).

Оцінка вмісту ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН показала, що найвиразніше вказаний показник знизився ( $p < 0,001$ ) на тлі введення КС-МСК (43,5%). Введення КЕС та КЕП призвело до співставного зниження рівня ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН відповідно на 26,4% ( $p < 0,001$ ) та на 26,7% ( $p < 0,001$ ).

Встановлене зменшення рівня досліджуваних ейкозаноїдів у тканинах нирок щурів з АІН може бути пов'язано з наявністю протизапальної активності у досліджуваних БКБЗ, опосередкованої інгібуванням C5b-9-опосередкованого метаболізму арахідонової кислоти в клубочкових епітеліальних клітинах при МН [38].

Встановлена найвиразніше нефропротекторна дія КС-МСК при АІН у щурів узгоджується з даними літератури щодо здатності МСК полегшувати гломеруло-

нефрит, індукований антитілами до базальної мембрани клубочків, шляхом пригнічення окислення та запалення [39].

#### Висновки

1. На тлі розвитку АІН відбувається кратне зростання вмісту ейкозаноїдів у тканині нирок: рівень ПГЕ2 статистично вірогідно ( $p < 0,001$ ) зріс у 2,9 рази, вміст ТхВ2 зріс у 5,5 рази ( $p < 0,001$ ), а ЛТВ4 зріс у 10,5 разів ( $p < 0,001$ ) відносно показників інтактних тварин.

2. На тлі введення досліджуваних БКБЗ найвиразніші зміни відмічено з боку вмісту ЛТВ4. На тлі введення КЕП вміст ЛТВ4 у щурів з АІН знизився ( $p = 0,005$ ) на 42,9%. Оцінка вмісту ПГЕ2 у тканинах нирок щурів з АІН показала, що найвиразніше вказаний показник знизився ( $p < 0,001$ ) на тлі введення КС-МСК (43,5%). Вміст ТхВ2 аналогічно найвиразніше знизився ( $p < 0,001$ ) на тлі застосування КС-МСК (44,4%).

**Перспективи подальших досліджень.** Результати дослідження слугують підґрунтям подальших досліджень механізмів нефропротекторної активності кріоекстракту плаценти, кріоекстракту селезінки та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі мембранозної нефропатії.

**Інформація про конфлікт інтересів.** Автор рукопису свідомо засвідчує відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чії продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

**Інформація про фінансування.** Робота не отримувала фінансування видатками Державного бюджету України.

**Особистий внесок кожного автора у виконання роботи:**

Гладких Ф.В. – ідея роботи, формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів та їх статистичне опрацювання, написання тексту статті.

#### ЛІТЕРАТУРА

- Jefferson JA, Nelson PJ, Najafian B, Shankland SJ. Podocyte disorders: core curriculum 2011. *American Journal of Kidney Diseases*. 2011;58(4):666–677. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.05.032>
- Kwiatkowska E, Stefańska K, Zieliński M, Sakowska J, Jankowiak M, Trzonkowski P, Marek-Trzonkowska N, Kwiatkowski S. Podocytes – the most vulnerable renal cells in preeclampsia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(14):5051. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21145051>
- Issa W, Njeim R, Carrazco A, Burke GW, Mitrofanova A. Role of the innate immune response in glomerular disease pathogenesis: focus on podocytes. *Cells*. 2024;13(13):1157. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13131157>
- Sinico RA, Mezzina N, Trezzi B, Ghiggeri GM, Radice A. Immunology of membranous nephropathy: from animal models to humans. *Clinical and Experimental Immunology*. 2016;183(2):157–165. DOI: <https://doi.org/10.1111/cei.12729>
- McGrogan A, Franssen CF, de Vries CS. The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2011;26(2):414–430. DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq665>
- Dantas M, Silva LBB, Pontes BTM, Dos Reis MA, de Lima PSN, Moysés Neto M. Membranous nephropathy. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2023;45(2):229–243. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2023-0046n>
- Ma H, Sandor DG, Beck LH Jr. The role of complement in membranous nephropathy. *Seminars in Nephrology*. 2013;33(6):531–542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2013.08.004>
- Kistler AD, Salant DJ. Complement activation and effector pathways in membranous nephropathy. *Kidney International*. 2024;105(3):473–483. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.10.035>
- Fujigaki Y, Nagase M, Honda N. Intraglomerular basement membrane translocation of immune complex (IC) in the development of passive in situ IC nephritis of rats. *The American Journal of Pathology*. 1993;142(3):831–842.
- Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: from models to man. *Journal of Clinical Investigation*. 2014;124(6):2307–2314. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI72270>
- Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM, Bonegio RG, Malik FA, Erickson SB, Cosio FG, Cattran DC, Salant DJ. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2011;22(8):1543–1550. DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2010111125>
- Takano T, Elimam H, Cybulsky AV. Complement-mediated cellular injury. *Seminars in Nephrology*. 2013;33(6):586–601. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2013.08.009>
- Hladkykh FV. 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)):124–137. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-24-02>

14. Hladkykh FV. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic and undesirable effects, ways of their optimization. Vinnytsia, 2022. 216 p. DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
15. Koshurba IV, Hladkikh FV, Chyzh MO. Assessment of antiulcerogenic effect of cryopreserved placenta extract on the model of alcohol-prednisolone damage of the stomach. *Medical science of Ukraine*. 2022;18(2):3–9. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2022.01>
16. Hladkykh FV. Prospects for the use of immunomodulators in the treatment of patients with autoimmune diseases: focus on extracts of biological tissues (cryoextract of the placenta and cryoextract of the spleen). *Immunology and allergology: science and practice*. 2023;4:29–46. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>
17. Heymann W, Kmetec EP, Wilson SG, Hunter JL, Hackel DB, Okuda R, Cuppage F. Experimental autoimmune renal disease in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1965;124(1):310–322. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb18966.x>
18. Freund J. Some aspects of active immunization. *Annual Review of Microbiology*. 1947;1:291–308. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.01.100147.001451>
19. Shebeko SK. Experimental substantiation of the combined use of amino sugar derivatives and flavonoids in the therapy of chronic kidney disease. *Dissertation*. Kharkiv, 2017. 516 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0521U100125/>
20. Deepthi R, Suhasin G. A review on animal models of chronic kidney disease – an update. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2023;16(3):1319–1327. DOI: <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2711>
21. Zahraa Mohammed-Ali, Rachel E. Carlisle, Samera Nademi, Jeffrey G. Dickhout, *Chapter 16 – Animal Models of Kidney Disease*. 2017:379–417. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00016-4>
22. Jefferson JA, Pippin JW, Shankland SJ. Experimental models of membranous nephropathy. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2010;7(1–2):27–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2010.11.001>
23. Becker GJ, Hewitson TD. Animal models of chronic kidney disease: useful but not perfect. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013;28(10):2432–2438. DOI: <https://doi.org/10.1093/ndt/gft071>
24. Wang YM, Lee VWS, Wu H, Harris DCH, Alexander SI. Heymann nephritis in Lewis rats. *Current Protocols in Immunology*. 2015;109:15.29.1–15.29.6. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1529s109>
25. Shtryhol SYu, Lisovyi VM, Zupanets IA, Shebeko SK, Maslova NF, Hozhenko AI, Kharchenko DS. Methods of experimental modeling of kidney damage for pharmacological research: methodical recommendations. Kharkiv, 2009. 48 p.
26. Podpletia OA, Khomyak NV, Sokolova KV, Kaidash SP, Khomyak OV. Phytotherapeutic drugs with nephroprotective activity (review). *Medical perspectives*. 2017;22(17):10–17. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2017.1.100866>
27. Shebeko SK, Chernykh VV, Zupanets KO. Nephroprotective effect of the herbal composition BNO 2103 in rats with renal failure. *Health of Man*. 2021;4:48–56. DOI: <https://doi.org/10.30841/2307-5090.4.2021.252396>
28. Monatko KV. Experimental study of the nephroprotective effect of freeze-dried watermelon powder. *Dissertation*. Kharkiv, 2014. 217 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0414U004729/>
29. Borisov SO, Kolosov OM, Kostev FI, Borisov OV. Study of the functional state of the kidneys of rats with acute pyelonephritis on the background of diabetes under the conditions of drug exposure in the experiment. *Health of Man*. 2020;72(1):80–83. DOI: <https://doi.org/10.30841/2307-5090.1.2020.205494>
30. Rybolovlev YuR, Rybolovlev RS. Dosage of substances for mammals according to biological activity constants. Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR. 1979;247(6):1513–1516.
31. Shepitko VI. 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. *Dissertation*. Kharkiv, 2004. 326 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/>
32. Bespalova IG. 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/>
33. 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):416–425. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>
34. Globa VYu. Use of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction. *Dissertation*. Kharkiv, 2021. 156 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/>
35. Zar J.H. Biostatistical analysis (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. 2014; 960 p.
36. Cybulsky AV, Papillon J, McTavish AJ. Complement activates phospholipases and protein kinases in glomerular epithelial cells. *Kidney International*. 1998;54(2):360–372. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00013.x>
37. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J, McTavish AJ. Complement-induced phospholipase A2 activation in experimental membranous nephropathy. *Kidney International*. 2000;57(3):1052–62. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00932.x>
38. Takano T, Cybulsky AV. Complement C5b-9-mediated arachidonic acid metabolism in glomerular epithelial cells: role of cyclooxygenase-1 and -2. *The American Journal of Pathology*. 2000;156(6):2091–2101. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65080-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65080-8)
39. Li Y, Yan M, Yang J, Raman I, Du Y, Min S, Fang X, Mohan C, Li QZ. Glutathione S-transferase Mu 2-transduced mesenchymal stem cells ameliorated anti-glomerular basement membrane antibody-induced glomerulonephritis by inhibiting oxidation and inflammation. *Stem Cell Research & Therapy*. 2014;5(1):19. DOI: <https://doi.org/10.1186/scrt408>