

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

РУДЬ МАРІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 616.36:612.017/.018:612.08:599.323.4

ДИСЕРТАЦІЯ
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ
КЛІТИН ПЕЧІНКИ В НОРМІ ТА ПРИ ДОВГОТРИВАЛОМУ
БЛОКУВАННІ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ
ТРИПТОРЕЛІНОМ У ЩУРІВ

222 Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

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

М.В. Рудь

Науковий керівник: **Стецук Євген Валерійович,**

кандидат медичних наук, доцент

Полтава – 2026

АНОТАЦІЯ

Рудь М.В. Морфофункціональний стан імунокомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у щурів – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії 22 Охорона здоров'я, спеціальність 222 Медицина – Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, 2026.

Тестостерон є одним із ключових біологічно активних регуляторів метаболічних, структурних та функціональних процесів у чоловічому організмі. Водночас відомо, що з віком відбувається поступове зниження інтенсивності його продукції, що призводить до формування стану андрогенного дефіциту.

Відомо, що дефіцит тестостерону чинить системний вплив і не обмежується лише ураженням статевих залоз, залучаючи до патологічного процесу інші органи й тканини, зокрема печінку. При цьому, за умов зниження рівня тестостерону та білкового дефіциту відбувається накопичення ліпідів у гепатоцитах, що може бути усунено шляхом нормалізації андрогенного статусу. Натомість, тривале екзогенне введення тестостерону сприяє поліпшенню перебігу неалкогольного жирового гепатозу, зменшуючи вираженість жирової інфільтрації печінкової паренхіми.

Печінка є багатофункціональним імунним органом, який забезпечує фільтрацію антигенів, клітинний і гуморальний імунний захист, а також формування імунологічної толерантності, що має ключове значення для підтримання системного гомеостазу. Зірчасті клітини печінки (клітини Іто), окрім участі у фіброгенезі, здатні модулювати імунні реакції через продукцію цитокінів і взаємодію з Т-лімфоцитами. Лімфоцити печінки (NK-клітини, NKT-клітини, Т- та В-лімфоцити) забезпечують противірусний і протипухлинний імунний нагляд.

Клітини Купфера (резидентні макрофаги печінки) здійснюють фагоцитоз бактерій, вірусів, імунних комплексів і продуктів розпаду клітин. Вони

синтезують цитокіни (IL-1, IL-6, TNF- α), хемокіни та фактори росту, регулюючи як запальні, так і репаративні процеси.

Сучасні уявлення про функціональний стан макрофагів ґрунтуються на концепції M1/M2-поляризації, згідно з якою M1-макрофаги є класично активованими клітинами з переважно прозапальними властивостями, тоді як M2-макрофаги характеризуються альтернативною активацією та виконують толерогенні й протизапальні функції, сприяючи завершенню запального процесу та регенерації тканин. Разом із тим, співвідношення між походженням макрофагів та їх функціональною поляризацією залишається недостатньо з'ясованим.

Фізіологічна дія тестостерону включає стимуляцію продукції оксиду азоту за участю ендотеліальної ізоформи NO-синтази. Однак, за умов андрогенного дефіциту, розвиток нітрозативного стресу може призводити до активації індукцйбельної ізоформи NO-синтази, що супроводжується надмірним утворенням реактивних форм азоту, зокрема пероксинітриту, та потенційним ушкодженням клітинних структур.

Флавоноїд кверцетин характеризується капіляростабілізуючою, мембраностабілізуючою та протизапальною дією, зокрема за рахунок інгібування ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти та зниження синтезу лейкотрієнів, серотоніну й інших медіаторів запалення. Виражений антиоксидантний потенціал кверцетину дозволяє розглядати його як перспективний засіб для корекції оксидативного та нітрозативного стресу в умовах дефіциту тестостерону.

Водночас вплив кверцетину на продукцію оксиду азоту в печінці за умов центральної депривації синтезу тестостерону залишається недостатньо вивченим, що зумовлює актуальність і доцільність проведення нашого дослідження.

Мета роботи. Вивчення морфофункціонального стану імунокомпетентних клітин печінки щурів в нормі, при довготривалому

блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та корекції його кверцетином.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі – комплексного дослідження імунокомпетентних клітин печінки щурів при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та введенням кверцетину в якості коректора.

Проведене комплексне дослідження дозволяє встановити, що тривале застосування триптореліну зумовлює стадійну перебудову клітинного складу непаренхімного апарату печінки, яка характеризується вираженою активацією макрофагальної ланки на тлі фазних коливань чисельності клітин Іто та лімфоцитів. Найбільш стабільним та статистично значущим (при $p < 0,01$) наслідком введення препарату є стрімке та прогресуюче зростання кількості клітин Купфера. Вже на 30-ту добу їх чисельність зростає на 408%, сягаючи максимуму до 365-ї доби (зростання у 7,2 раза порівняно з контролем). Динаміка лімфоцитів демонструє виражену депресію в середньостроковому періоді: найглибший спад фіксується на 90-ту добу (зниження на 59%, при $p < 0,01$). До 270–365-ї доби спостерігалася повна нормалізація чисельності лімфоцитів до показників контрольної групи.

Введення триптореліну з корекцією кверцетином спричиняє суттєві та тривалі зміни імунокомпетентного клітинного складу печінки. Найбільш стабільною та вираженою реакцією є достовірне й тривале зростання кількості макрофагів у всі терміни спостереження, що свідчить про активацію макрофагальної ланки місцевого імунного захисту та розвиток хронічної імунної відповіді. Зміни кількості клітин Іто та лімфоцитів мають хвилеподібний характер із періодами нормалізації та повторної активації, що вказує на адаптаційно-компенсаторні процеси в печінці під впливом введення кверцетину.

Тривале блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призводить до прогресуючого зростання експресії білка S100A9 у тканинах печінки. Блокування синтезу лютеїнізуючого гормону викликає ранню

активацію загальної популяції макрофагів. Максимальний пік експресії CD68+ припадає на 90-ту добу (зростання у 5,25 рази), що вказує на інтенсивну фазу фагоцитарної активності та первинну відповідь на пошкодження печінки. Друга хвиля зростання на 365 добу свідчить про перехід процесу у хронічну форму з повторною активацією імунних клітин.

Експресія маркера CD163+, що характеризує альтернативно активовані макрофаги (тип M2), має іншу часову траєкторію з максимумом на 180-ту добу (зростання у 8,03 рази). Це свідчить про спробу організму компенсувати запалення та активувати процеси репарації у відповідь на тривалий стрес.

Кверцетин ефективно впливав на надмірну продукцію оксиду азоту у тканинах печінки щурів, що спостерігалось з 1 місяця експерименту та попереджував розвиток нітрозативних уражень печінки на всіх термінах експерименту, порівняно із показниками групи введення триптореліну.

Наукова новизна дослідження.

Встановлено, що введення триптореліну з корекцією кверцетином спричиняє суттєві та тривалі зміни імунокомпетентного клітинного складу печінки. Найбільш стабільною та вираженою реакцією є достовірне й тривале зростання кількості макрофагів у всі терміни спостереження, що свідчить про активацію макрофагальної ланки місцевого імунного захисту та розвиток хронічної імунної відповіді. Зміни кількості клітин Іто та лімфоцитів мають хвилеподібний характер із періодами нормалізації та повторної активації, що вказує на адаптаційно-компенсаторні процеси в печінці під впливом введення кверцетину.

Визначено, що блокування синтезу лютеїнізуючого гормону викликає ранню активацію загальної популяції макрофагів. Максимальний пік експресії CD68+ припадає на 90-ту добу (зростання у 5,25 рази), що вказує на інтенсивну фазу фагоцитарної активності та первинну відповідь на пошкодження печінки. Друга хвиля зростання на 365 добу свідчить про перехід процесу у хронічну форму з повторною активацією імунних клітин.

Встановлено, що введення кверцетину здатне частково нівелювати імунну відповідь, свідченням чого є певна модуляція активності макрофагів. Зокрема, високі рівні CD163+ на пізніх етапах можуть трактуватися як підтримка захисного потенціалу печінки на фоні хімічної кастрації, викликаній триптореліном.

Показано, що фармакологічна блокада синтезу лютеїнізуючого гормону шляхом введення триптореліну спричиняє розвиток нітрозативного стресу в печінці щурів, який характеризується порушенням співвідношення індукцибельної NO-синтази/аргінази, та може слугувати підтвердженням переважання M1 фенотипу макрофагів у тканинах печінки на тлі гормонального дисбалансу з максимумом на останніх термінах експерименту.

Практичне значення отриманих результатів дослідження.

Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органа при патологічних процесах, особливо при дисгормональних станах.

Отримані результати визначають важливість вивчення імунологічних властивостей непаренхімних клітинних компонентів печінки, а саме зміни фенотипу макрофагів M1/M2, активності клітин Іто, як потенційних маркерів розвитку фібротичних змін у тканинах органа при зміні гормонального статусу.

Отримані нові наукові дані щодо використання флавоноїда кверцетина, який виступає як модулюючий фактор на тлі довготривалого пригнічення синтезу тестостерону, що може бути використано, як теоретичне обґрунтування розробки методів корекції порушень функціонування печінки при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-печінка».

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету (затв. 18.12.2025 р.), кафедри гістології та ембріології

Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (затв. 28.08.2024 р.), кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (затв. 08.01.2025 р.), кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (затв. 06.01.2025 р.), кафедри гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з курсом судової медицини Одеського національного медичного університету(затв. 05.11.2024 р.).

Ключові слова: печінка, трипторелін, кверцетин, лютеїнізуючий гормон, M1 M2 макрофаги, поляризація макрофагів, оксидативний стрес, NO-синтаза, антиоксиданти, імуногістохімічні характеристики, морфологія, морфометрія, CD-163, CD-68, щури.

ABSTRACT

Rud M.V. Morphofunctional state of immunocompetent liver cells in normal conditions and during long-term blockade of luteinising hormone synthesis by triptorelin in rats – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining the degree of Doctor of Philosophy in specialty 22 – Health Care, 222 – Medicine. – Poltava State Medical University, Poltava, 2026.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy 22 Health Care, speciality 222 Medicine – Poltava State Medical University, Poltava, 2026.

Testosterone is one of the key biologically active regulators of metabolic, structural and functional processes in the male body. Concurrently, it is acknowledged that with advancing age, there is a gradual decline in the intensity of its production, which results in the development of androgen deficiency.

It is known that testosterone deficiency has a systemic effect and is not limited to damage to the gonads, involving other organs and tissues, in particular the liver, in the pathological process. At the same time, with a decrease in testosterone levels and protein deficiency, lipids accumulate in hepatocytes, which can be eliminated by normalising androgen status. On the other hand, long-term exogenous testosterone

administration helps improve the course of non-alcoholic fatty liver disease by reducing the severity of fatty infiltration of the liver parenchyma.

The liver is a multifunctional immune organ that provides antigen filtration, cellular and humoral immune defence, and the formation of immunological tolerance, which is essential for maintaining systemic homeostasis. Hepatic stellate cells (Ito cells), in addition to participating in fibrogenesis, are capable of modulating immune responses through cytokine production and interaction with T lymphocytes. Liver lymphocytes (NK cells, NKT cells, T and B lymphocytes) provide antiviral and antitumour immune surveillance.

Kupffer cells (resident macrophages of the liver) phagocytose bacteria, viruses, immune complexes, and cell debris. They synthesise cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α), chemokines and growth factors, regulating both inflammatory and reparative processes.

Current understanding of the functional state of macrophages is based on the concept of M1/M2 polarisation, according to which M1 macrophages are classically activated cells with predominantly pro-inflammatory properties, while M2 macrophages are characterised by alternative activation and perform tolerogenic and anti-inflammatory functions, contributing to the completion of the inflammatory process and tissue regeneration. However, the relationship between the origin of macrophages and their functional polarisation remains unclear.

The physiological effect of testosterone includes stimulation of nitric oxide production involving the endothelial isoform of NO synthase. However, in conditions of androgen deficiency, the development of nitrosative stress can lead to the activation of the inducible isoform of NO synthase, accompanied by excessive formation of reactive nitrogen species, in particular peroxynitrite, and potential damage to cellular structures.

The flavonoid quercetin is characterised by capillary-stabilising, membrane-stabilising and anti-inflammatory effects, in particular by inhibiting the lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism and reducing the synthesis of leukotrienes, serotonin and other inflammatory mediators. The pronounced antioxidant potential of

quercetin allows it to be considered a promising agent for the correction of oxidative and nitrosative stress in conditions of testosterone deficiency.

At the same time, the effect of quercetin on nitric oxide production in the liver under conditions of central testosterone synthesis deprivation remains insufficiently studied, which determines the relevance and relevance of our study.

Objective. To study the morphofunctional state of immunocompetent liver cells in rats under normal conditions, during long-term blockade of luteinising hormone synthesis with triptorelin and correction with quercetin.

The dissertation presents a theoretical generalization and a new solution to a scientific problem – a comprehensive study of immunocompetent cells of the rat liver during long-term blockade of luteinizing hormone synthesis with triptorelin and administration of quercetin as a corrector.

The comprehensive study allows us to establish that long-term use of triptorelin causes a staged restructuring of the cellular composition of the non-parenchymal apparatus of the liver, which is characterised by pronounced activation of the macrophage link against the background of phase oscillations in the number of Ito cells and lymphocytes. The most stable and statistically significant (at $p < 0.01$) effect of the drug administration is a rapid and progressive increase in the number of Kupffer cells. Already on the 30th day, their number increases by 408%, reaching a maximum by the 365th day (a 7.2-fold increase compared to the control). The dynamics of lymphocytes show a pronounced depression in the medium term: the deepest decline is recorded on the 90th day (a decrease of 59%, at $p < 0.01$). By the 270th–365th day, the number of lymphocytes had completely normalised to the control group levels.

The administration of triptorelin with quercetin correction causes significant and prolonged changes in the immunocompetent cellular composition of the liver. The most stable and pronounced reaction is a reliable and prolonged increase in the number of macrophages throughout the observation period, indicating the activation of the macrophage link of local immune defence and the development of a chronic immune response. Changes in the number of Ito cells and lymphocytes are wave-like

in nature, with periods of normalisation and reactivation, indicating adaptive-compensatory processes in the liver under the influence of quercetin administration.

Prolonged inhibition of luteinising hormone synthesis by triptorelin leads to progressive increase in S100A9 protein expression in liver tissues. Inhibition of luteinising hormone synthesis causes early activation of the general macrophage population. The maximum peak of CD68+ expression occurs on day 90 (a 5.25-fold increase), indicating an intense phase of phagocytic activity and a primary response to liver damage. The second wave of growth on day 365 indicates a transition to a chronic form with re-activation of immune cells.

The expression of the CD163+ marker, which characterises alternatively activated macrophages (type M2), has a different temporal trajectory with a maximum at 180 days (an 8.03-fold increase). This indicates an attempt by the body to compensate for inflammation and activate repair processes in response to prolonged stress.

Quercetin effectively influenced the excessive production of nitric oxide in the liver tissues of rats, which was observed from the first month of the experiment and prevented the development of nitrosative liver damage at all stages of the experiment, compared with the indicators of the triptorelin administration group.

Scientific novelty of the study.

It has been established that the administration of tryptorelin with quercetin correction causes significant and prolonged changes in the immunocompetent cellular composition of the liver. The most stable and pronounced reaction is a reliable and prolonged increase in the number of macrophages throughout the observation period, indicating the activation of the macrophage link of local immune defence and the development of a chronic immune response. Changes in the number of Ito cells and lymphocytes are of a wave-like nature with periods of normalisation and reactivation, indicating adaptive-compensatory processes in the liver under the influence of quercetin administration.

It has been determined that blocking the synthesis of luteinising hormone causes early activation of the general macrophage population. The maximum peak of

CD68+ expression occurs on day 90 (a 5.25-fold increase), indicating an intense phase of phagocytic activity and a primary response to liver damage. The second wave of growth on day 365 indicates a transition to a chronic form of the process with repeated activation of immune cells.

It has been established that the administration of quercetin can partially neutralise the immune response, as evidenced by a certain modulation of macrophage activity. In particular, high levels of CD163+ in the late stages can be interpreted as maintaining the protective potential of the liver against the background of chemical castration caused by tryptorelin.

It has been shown that pharmacological blockade of luteinising hormone synthesis by the administration of tryptorelin causes the development of nitrosative stress in the liver of rats, which is characterised by a disturbance in the ratio of inducible NO synthase/arginase and may serve as confirmation of the predominance of the M1 macrophage phenotype in liver tissues against the background of hormonal imbalance, with a maximum at the end of the experiment.

Practical significance of the received research results.

The received data are considered a theoretical prerequisite for the development of a diagnostic algorithm for the study of liver biopsies for morphological diagnosis of the degree of adaptive and compensatory reserves of organ tissues in pathological processes, especially in dyshormonal conditions.

The results obtained determine the importance of studying the immunological properties of non-parenchymal cellular components of the liver, namely changes in the phenotype of M1/M2 macrophages and the activity of Ito cells, as potential markers of the development of fibrotic changes in organ tissues during changes in hormonal status.

New scientific data has been obtained on the use of the flavonoid quercetin, which acts as a modulating factor against the background of long-term suppression of testosterone synthesis. This can be used as a theoretical basis for the development of methods for correcting liver dysfunction in cases of pathological effects on the body

caused by a dyshormonal state of central genesis in the hypothalamus-pituitary-testicular-liver axis.

Implementation of research results. The results obtained in the dissertation have been implemented in scientific research and the educational process: the Department of Histology, Cytology and Embryology of Poltava State Medical University (approved on 18.12.2025), the Department of Histology and Embryology of the I. Ya. Gorbachevsky Ternopil National Medical University (approved on 28.08.2024), the Department of Histology and Embryology of the O. O. Bogomolets National Medical University (approved on 08.01.2025), the Department of Histology, Cytology and Embryology of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (approved on 06.01.2025), Department of Histology, Cytology, Embryology and Pathological Morphology with a course in Forensic Medicine, Odessa National Medical University (approved on 05.11.2024).

Key words: liver, tryptorelin, quercetin, luteinising hormone, M1 M2 macrophages, macrophage polarisation, oxidative stress, NO synthase, antioxidants, immunohistochemical characteristics, morphology, morphometry, CD-163, CD-68, rats.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ:

Наукові праці, у яких висвітлені основні наукові результати дисертації:

1. Рудь М.В. Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. (2021) *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 21(2), 203–207 (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті).
2. M.V. Rud', V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] (2021). The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *Світ медицини та біології*. № 2

- (76), 238–242 (**Web of Science**) (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті).
3. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk, O.Ye. Akimov (2022.) The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*, 26 (1-2), 22-25 (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті).
 4. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk, O.Ye. Akimov (2022.) Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment. *Вісник проблем біології і медицини*. 2(165), 151–155 (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті).
 5. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk [et al.] (2023) Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day. *Світ медицини та біології*. № 2 (84), 229–233 (**Web of Science**) (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті).
 6. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk [et al.] (2024) Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. № 7 (20), 511-516 (**Scopus**) (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті).

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Рудь М.В. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження / М.В. Рудь, В. І. Шепітько // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р. – Полтава, 2021. – С. 80–81. (Здобувачці належать результати дослідження процесів продукування оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки при тривалій центральній депривації синтезу тестостерону, викликаній триптореліном).
8. Рудь М.В. Морфофункціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки на фоні пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу / М.В. Рудь, О.В. Вільхова, Т.А. Скотаренко // Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, 8 жовтня 2021р. - Полтава, 2021. - С. 145-147. (Здобувачці належать результати досліджень реакції імунокомпетентних клітин печінки, за умов блокування синтезу тестостерону центрального генезу).
9. Rud' M.V. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M.V. Rud', V. I. Shepitko, T. A. Skotarenko, O. A. Polyviana // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва, м. Полтава,

- Україна, 14 квітня 2022 р. – Полтава, 2022. – С. 57–58. (Здобувачці належать результати досліджень якісних та кількісних змін імункомпетентних клітин печінки, викликаних пригніченням синтезу тестостерону у щурів-самців за рахунок введення триптореліну ацетату на 270-й день експерименту).
10. Rud' M. The influence of quercetin on biochemical changes in rat liver tissue on the background of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M. Rud', Ye. Stetsuk, V. Shepitko, O. Vilhova // Abstract book of the 22nd EAA Congress / 15th ISGA Congress 5th International Conference of Evolutionary Medicine, Vilnius, Lithuania, August 24–27, 2022. – Vilnius, 2022. – P. 199. (Здобувачці належать результати досліджень біохімічних змін тканин печінки при введенні кверцетину на тлі блокування синтезу тестостерону центрального генезу).
11. Rud' M.V. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180 / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 107–108. (Здобувачці належать результати досліджень реакцій імункомпетентних клітин печінки, викликаних пригніченням синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів-самців на 180-й день експерименту).
12. Rud' M.V. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, м. Київ, 8–9 червня 2023. – Київ, 2023. – С. 101–102. (Здобувачці належать результати досліджень впливу довготривалого блокування синтезу тестостерону центрального генезу на популяцію макрофагів печінки).

13. Rud' M.V. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р. – Дніпро, 2023. – С. 94–95. (Здобувачці належать результати досліджень впливу довготривалого блокування синтезу тестостерону центрального генезу на популяцію макрофагів печінки).
14. Rud' M.V. S100A9 protein as a marker of hepatic inflammatory processes under long-term inhibition of luteinizing hormone synthesis / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk, O. V. Vilhova // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 118–120. (Здобувачці належать результати досліджень щодо маркерів запальних процесів печінки у віддалені терміни експерименту).
15. Рудь М.В. Динаміка зміни експресії CD 68+ та CD 163+ макрофагів печінки на тлі тривалого пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів в експерименті / М.В. Рудь, Є.В. Стецук, О.В. Вільхова, О.В. Волошина // Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава, 30–31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 146–147. (Здобувачці належать результати досліджень щодо експресії маркерів макрофагів печінки у віддалені терміни експерименту).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ		20
ВСТУП		21
РОЗДІЛ 1	СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	34
1.1.	Морфофункціональні особливості імунокомпетентних клітин печінки	34
1.2.	Печінковий гомеостаз	45
1.3.	Характеристика гонадотропін-релізінг гормонів	51
1.4.	Вплив флавоноїда кверцетина на ряд патологічних станів	55
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	59
2.1.	Матеріал дослідження	59
2.2.	Методи дослідження та їх обґрунтування	61
2.2.1.	Модель експерименту	61
2.2.2.	Гістологічне дослідження тканин печінки білих щурів	62
2.2.3.	Біохімічні методи дослідження	63
2.2.4.	Методика імуногістохімічного дослідження тканин печінки	65
2.2.5.	Морфометрія препаратів тканин печінки білих щурів	66
2.2.6.	Статистичне обробка результатів дослідження	67
РОЗДІЛ 3	МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ В КОНТРОЛЬНІЙ ГРУПІ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ	68
3.1.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів у контрольній групі тварин	68
3.2.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 30-й день експерименту	72
3.3.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 90-й день експерименту	74
3.4.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 180-й день експерименту	77
3.5.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 270-й день експерименту	79
3.6.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки	81

	щурів при введенні триптореліну на 365-й день експерименту	
3.7.	Резюме	82
РОЗДІЛ 4.	МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ І ЙОГО КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ	87
4.1.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 30-й день експерименту	87
4.2.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 90-й день експерименту	89
4.3.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 180-й день експерименту	92
4.4.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 270-й день експерименту	93
4.5.	Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 365-й день експерименту	95
4.6.	Резюме	98
РОЗДІЛ 5	АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ КІЛЬКІСНИХ ПОКАЗНИКІВ S100A9, CD68+ ТА CD163+ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ	102
5.1.	Характеристика експресії кількісного показника S100A9 в тканинах печінки при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та при введенні кверцетину	102
5.1.1.	Висновок	105
5.2.	Характеристика кількісного показника макрофагів печінки за рівнем експресії рецепторів CD68+ та CD163+ при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.	106
5.3.	Характеристика кількісного показника макрофагів за рівнем експресії рецепторів CD68+ та CD163+ при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та введенні кверцетину	109
5.4.	Порівняльна характеристика кількісного показника макрофагів за рівнем експресії рецепторів CD68+ та CD163+ в контрольній та експериментальних групах	113
5.5.	Резюме	114
РОЗДІЛ 6	ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН АКТИВНОСТІ	118

	ФЕРМЕНТНИХ РЕАКЦІЙ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ У НОРМІ ТА НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ	
6.1.	Результати обстеження рівня активності ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів у нормі, при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та при введенні кверцетин	118
6.2.	Резюме	125
РОЗДІЛ 7	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	127
	ВИСНОВКИ	143
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	146
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	147
	ДОДАТКИ	171

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

КК – клітини Купфера;

ЕГ – експериментальна група;

ЛГ – лютеїнізуючий гормон;

ARG – аргінази;

INOS – індукцибельна NO-синтаза;

DAMP - молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням;

CD – кластер диференціації;

Тр – трипторелін;

К – кверцетин.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Тестостерон є одним із ключових біологічно активних регуляторів метаболічних, структурних та функціональних процесів у чоловічому організмі. Водночас відомо, що з віком відбувається поступове зниження інтенсивності його продукції, що призводить до формування стану андрогенного дефіциту. За результатами попередніх експериментальних досліджень, виконаних у межах науково-дослідної теми кафедри гістології, цитології та ембріології, було встановлено, що центральна депривація синтезу тестостерону шляхом введення триптореліну супроводжується гіперпродукцією оксиду азоту та розвитком оксидативного стресу в сім'яниках щурів [1].

Відомо, що дефіцит тестостерону чинить системний вплив і не обмежується лише ураженням статевих залоз, залучаючи до патологічного процесу інші органи й тканини, зокрема печінку. При цьому, за умов зниження рівня тестостерону та білкового дефіциту відбувається накопичення ліпідів у гепатоцитах, що може бути усунено шляхом нормалізації андрогенного статусу [2]. Показано, що тривале екзогенне введення тестостерону сприяє поліпшенню перебігу неалкогольного жирового гепатозу, зменшуючи вираженість жирової інфільтрації печінкової паренхіми [3].

Печінка є багатофункціональним імунним органом, який забезпечує фільтрацію антигенів, клітинний і гуморальний імунний захист, а також формування імунологічної толерантності, що має ключове значення для підтримання системного гомеостазу.

Синусоїдальні ендотеліальні клітини беруть участь у презентації антигенів, експресують молекули адгезії та сприяють формуванню імунної толерантності до харчових і коменсальних антигенів.

Зірчасті клітини печінки (клітини Іто), окрім участі у фіброгенезі, здатні модулювати імунні реакції через продукцію цитокінів і взаємодію з Т-лімфоцитами.

Лімфоцити печінки (NK-клітини, NKT-клітини, Т- та В-лімфоцити) забезпечують противірусний і протипухлинний імунний нагляд.

Клітини Купфера (резидентні макрофаги печінки) здійснюють фагоцитоз бактерій, вірусів, імунних комплексів і продуктів розпаду клітин. Вони синтезують цитокіни (IL-1, IL-6, TNF- α), хемокіни та фактори росту, регулюючи як запальні, так і репаративні процеси.

Сучасні уявлення про функціональний стан макрофагів ґрунтуються на концепції M1/M2-поляризації, згідно з якою M1-макрофаги є класично активованими клітинами з переважно прозапальними властивостями, тоді як M2-макрофаги характеризуються альтернативною активацією та виконують толерогенні й протизапальні функції, сприяючи завершенню запального процесу та регенерації тканин [4]. Разом із тим, співвідношення між походженням макрофагів та їх функціональною поляризацією залишається недостатньо з'ясованим. Згідно з однією з концепцій, резидентні макрофаги ембріонального походження переважно відповідають M2-фенотипу, тоді як мігруючі макрофаги моноцитарного (кістковомозкового) походження – M1-фенотипу [5].

За фізіологічних умов популяція резидентних макрофагів печінки ссавців, у тому числі шурів, представлена переважно клітинами, що походять від гемопоетичних клітин жовткового мішка. Імунофенотипування макрофагів печінки свідчить про високу експресію маркерів CD68, CD163 та CD206, що дозволяє розглядати клітини Купфера як такі, що наближені до M2-прорегенераторного фенотипу [6]. Водночас виявлення CD86-позитивних резидентних макрофагів свідчить або про наявність M1-макрофагів у нормальній печінці, або про існування клітин з проміжним фенотипом між M1 та M2 [7].

Високий вміст у печінці макрофагів, що експресують CD163 і CD206, вказує не лише на їх прорегенераторні властивості, але й на тісний функціональний зв'язок із метаболічними процесами в печінці, оскільки зазначені рецептори беруть участь в утилізації гемоглобіну, а також у

метаболізмі гормонів і цитокінів [8]. Маркер CD68 (макросіалін) є інтегральним трансмембранним білком, що залучений до фагоцитарної активності та функціонування лізосомального апарату макрофагів. Маркери CD86, CD163 і CD206 відіграють важливу роль у регуляції імунної відповіді: CD86 забезпечує активацію та проліферацію Т-лімфоцитів, CD163 бере участь у розпізнаванні патогенів, реалізації запальної відповіді та утилізації гемоглобіну [9], а CD206 – у зв'язуванні, ендоцитозі та метаболизмі цитокінів, гормонів і компонентів бактеріального походження. При цьому, CD163 і CD206 розглядаються як маркери M2-прорегенераторних макрофагів, тоді як CD86 асоціюється з M1-прозапальним фенотипом.

Фізіологічна дія тестостерону включає стимуляцію продукції оксиду азоту за участю ендотеліальної ізоформи NO-синтази. Однак, за умов андрогенного дефіциту розвиток нітрозативного стресу може призводити до активації індукцибельної ізоформи NO-синтази, що супроводжується надмірним утворенням реактивних форм азоту, зокрема пероксинітриту, та потенційним ушкодженням клітинних структур [10].

Таким чином, нітрозативний стрес, зумовлений дефіцитом тестостерону, є важливою патогенетичною ланкою ушкодження органів і тканин. У цьому контексті перспективним напрямом патогенетичної корекції та профілактики відповідних змін є застосування препаратів з вираженими антиоксидантними властивостями. Флавоноїд кверцетин характеризується капіляростабілізуючою, мембраностабілізуючою та протизапальною дією, зокрема за рахунок інгібування ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти та зниження синтезу лейкотрієнів, серотоніну й інших медіаторів запалення. Виражений антиоксидантний потенціал кверцетину дозволяє розглядати його як перспективний засіб для корекції оксидативного та нітрозативного стресу в умовах дефіциту тестостерону.

Водночас вплив кверцетину на продукцію оксиду азоту в печінці за умов центральної депривації синтезу тестостерону залишається недостатньо

вивченим, що зумовлює актуальність і доцільність проведення нашого дослідження.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на базі кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету в рамках планових науково-дослідних тем: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925, роки виконання 2019-2023 та «Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріоплацентарного комплексу (ЕПК), дифереліну та кверцетину на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів» номер державної реєстрації № 0124U003358, роки виконання 2024-2028.

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи. Метою цього дослідження є вивчення морфофункціонального стану імунокомпетентних клітин печінки щурів в нормі, при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та корекції його кверцетином.

Задачі дослідження:

1. Визначити закономірності змін в кількості непаренхімних клітин печінки щурів самців, а саме: клітин Іто, лімфоцитів та клітин Купфера за умов пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону, викликаного шляхом введення триптореліну, та при додаванні кверцетину;

2. Дослідити експресію та розповсюдженість білка S100A9 в тканинах печінки за умов пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів-самців, викликаного шляхом введення триптореліну, та при додаванні кверцетину;

3. Встановити закономірності поляризації макрофагів печінки за фенотипом M1/M2 шляхом аналізу експресії CD 68+ та CD 163+, за умов пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів-самців, викликаного шляхом введення триптореліну, та при додаванні кверцетину;

4. З'ясувати патогенез розвитку нітрозативного ушкодження тканин печінки за умов пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів-самців, викликаного шляхом введення триптореліну, та при додаванні кверцетину.

Об'єкт дослідження: структурно-функціональні особливості імунокомпетентних клітин печінки щурів при експериментальному пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у поєднанні з введенням кверцетину.

Предмет дослідження: морфофункціональний стан імунокомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Методи дослідження. У роботі використані наступні методи досліджень: експериментальний метод – дослідження були проведені у створених штучно умовах;

гістологічний метод – для вивчення морфофункціональних особливостей структурних компонентів печінки щурів у нормі та в умовах експерименту;

морфометричний метод – для визначення кількісних параметрів імунокомпетентних клітин печінки щурів;

імуногістохімічний метод – для визначення кількісних показників експресії S100A9 та CD68+ ТА CD163+ у тканинах печінки на різних етапах експерименту;

біохімічний метод – дослідження ферментів циклу оксиду азоту в тканинах печінки білих щурів;

статистичне опрацювання результатів дослідження з використанням пакета прикладних програм на комп'ютері.

Наукова новизна одержаних результатів.

Встановлено, що введення триптореліну з корекцією кверцетином спричиняє суттєві та тривалі зміни імунокомпетентного клітинного складу печінки. Найбільш стабільною та вираженою реакцією є достовірне й тривале зростання кількості макрофагів у всі терміни спостереження, що свідчить про активацію макрофагальної ланки місцевого імунного захисту та розвиток

хронічної імунної відповіді. Зміни кількості клітин Іто та лімфоцитів мають хвилеподібний характер із періодами нормалізації та повторної активації, що вказує на адаптаційно-компенсаторні процеси в печінці під впливом введення кверцетину.

Визначено, що блокування синтезу лютеїнізуючого гормону викликає ранню активацію загальної популяції макрофагів. Максимальний пік експресії CD68+ припадає на 90-ту добу (зростання у 5,25 рази), що вказує на інтенсивну фазу фагоцитарної активності та первинну відповідь на пошкодження печінки. Друга хвиля зростання на 365 добу свідчить про перехід процесу у хронічну форму з повторною активацією імунних клітин.

Встановлено, що введення кверцетину здатне частково нівелювати імунну відповідь, свідченням чого є певна модуляція активності макрофагів. Зокрема, високі рівні CD163+ на пізніх етапах можуть трактуватися як підтримка захисного потенціалу печінки на фоні хімічної кастрації, викликаній триптореліном.

Показано, що фармакологічна блокада синтезу лютеїнізуючого гормону шляхом введення триптореліну спричиняє розвиток нітрозативного стресу в печінці щурів, який характеризується порушенням співвідношення iNOS/ARG, та може слугувати підтвердженням переважання M1 фенотипу макрофагів у тканинах печінки на тлі гормонального дисбалансу з максимумом на останніх термінах експерименту.

Практичне значення отриманих результатів дослідження.

Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органа при патологічних процесах, особливо при дисгормональних станах.

Отримані результати визначають важливість вивчення імунологічних властивостей непаренхімних клітинних компонентів печінки, а саме зміни

фенотипу макрофагів M1/M2, активності клітин Іто, як потенційних маркерів розвитку фібротичних змін у тканинах органа при зміні гормонального статусу.

Отримані нові наукові дані щодо використання флавоноїда кверцетина, який виступає як модулюючий фактор на тлі довготривалого пригнічення синтезу тестостерону, що може бути використано, як теоретичне обґрунтування розробки методів корекції порушень функціонування печінки при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-печінка».

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з курсом судової медицини Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. У процесі виконання дисертаційного дослідження дисертанткою за участі наукового керівника було сформовано цілісну програму наукової роботи, визначено основну мету, конкретизовані завдання дослідження та обґрунтовано вибір адекватних методичних підходів. Авторка дисертації повністю опанувала комплекс експериментальних і аналітичних методів, здійснила ґрунтовний аналіз наукових літературних джерел за темою дослідження та особисто виконала весь обсяг експериментальних досліджень. Окрему увагу було приділено самостійному проведенню математико-статистичній обробці отриманих результатів, що забезпечило їхню надійність і відтворюваність. Результати дослідження відображено в наукових публікаціях, підготовлених здобувачкою як у співавторстві, так і одноосібно. На підставі одержаних даних дисертантка

самостійно сформулювала узагальнені висновки та практичні рекомендації, що становлять наукову основу дисертаційної роботи.

Статті:

1. Рудь М.В. Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. (2021) *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 21(2), 203–207 (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
2. M.V. Rud', V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] (2021). The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *Світ медицини та біології*. № 2 (76), 238–242 (**Web of Science**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
3. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk, O.Ye. Akimov (2022.) The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*, 26 (1-2), 22-25 (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
4. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk, O.Ye. Akimov (2022.) Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment. *Вісник проблем біології і медицини*. 2(165), 151–155 (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
5. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk [et al.] (2023) Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day. *Світ медицини та біології*. № 2 (84), 229–233 (**Web of Science**)

(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

6.M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk [et al.] (2024) Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. № 7 (20), 511-516 (**Scopus**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

Тези, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7.Рудь М.В. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження / М.В. Рудь, В. І. Шепітько // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р. – Полтава, 2021. – С. 80–81. (Здобувачці належать результати дослідження процесів продукування оксиду азоту при тривалій центральній депривації синтезу тестостерону, викликаній триптореліном в антигенпрезентуючих клітинах печінки).

8.Рудь М.В. Морфо-функціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки на фоні пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу / М.В. Рудь, О.В. Вільхова, Т.А. Скотаренко // Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, 8 жовтня 2021р. - Полтава, 2021. - С. 145-147. (Здобувачці належать результати

досліджень реакції імунокомпетентних клітин печінки, за умов блокування синтезу тестостерону центрального генеза).

9.Rud' M.V. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M.V. Rud', V. I. Shepitko, T. A. Skotarenko, O. A. Polyviana // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва, м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р. – Полтава, 2022. – С. 57–58. (Здобувачці належать результати досліджень якісних та кількісних змін імунокомпетентних клітин печінки, викликаних пригніченням синтезу тестостерону у щурів-самців за рахунок введення триптореліну ацетату на 270-й день експерименту).

10.Rud' M. The influence of quercetin on biochemical changes in rat liver tissue on the background of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M. Rud', Ye. Stetsuk, V. Shepitko, O. Vilhova // Abstract book of the 22nd EAA Congress / 15th ISGA Congress 5th International Conference of Evolutionary Medicine, Vilnius, Lithuania, August 24–27, 2022. – Vilnius, 2022. – P. 199. (Здобувачці належать результати досліджень біохімічних змін тканин печінки при введенні кверцетину на тлі блокування синтезу тестостерону центрального генеза).

11.Rud' M.V. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180 / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 107–108. (Здобувачці належать результати досліджень реакції імунокомпетентних клітин печінки, викликаних пригніченням синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів-самців на 180-й день експерименту).

12. Rud' M.V. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, м. Київ, 8–9 червня 2023. – Київ, 2023. – С. 101–102. (Здобувачці належать результати досліджень впливу довготривалого блокування синтезу тестостерону центрального генезу на популяцію макрофагів печінки).
13. Rud' M.V. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» , м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р. – Дніпро, 2023. – С. 94–95. (Здобувачці належать результати досліджень впливу довготривалого блокування синтезу тестостерону центрального генезу на популяцію макрофагів печінки).
14. Rud' M.V. S100A9 protein as a marker of hepatic inflammatory processes under long-term inhibition of luteinizing hormone synthesis / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk, O. V. Vilhova // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 118–120. (Здобувачці належать результати досліджень щодо маркерів запальних процесів печінки у віддаленні терміни експерименту).
15. Рудь М.В. Динаміка зміни експресії CD 68+ та CD 163+ макрофагів печінки на тлі тривалого пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів в експерименті / М.В. Рудь, Є.В. Стецук, О.В. Вільхова, О.В. Волошина // Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», , м. Полтава, 30–31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 146–147. (Здобувачці належать результати досліджень щодо

експресії маркерів макрофагів печінки у віддаленні терміни експерименту).

Апробація роботи. Апробація результатів дисертаційної роботи здійснювалася на наукових семінарах морфологічних і клінічних кафедр Полтавського державного медичного університету, також результати були представлені та обговорені на конференціях:

1. Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Морфологічні аспекти сучасної медицини та стоматології», присвяченої 85-річчю з дня народження професора М.С. Скрипнікова у рамках святкування 100-річчя з дня заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 19 – 20 травня 2021 р.
2. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р.
3. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18-19 квітня 2024 р.
4. Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава, 30–31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 146–147.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 15 робіт, з них 6 статей у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS, та 9 публікацій у збірниках тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 170 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 4-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів

дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 196 найменувань, розміщених на 24 сторінках. Робота проілюстрована 32 рисунками, та 11 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ

(Огляд літератури)

1.1 Морфофункціональні особливості імунокомпетентних клітин печінки

Функціональна одиниця печінки, що називається печінковою часточкою, складається з паренхіматозних клітин (гепатоцитів). Ці шестикутні структури містять печінкові синусоїди, які простягаються від центральної вени в центрі часточки до портальних тріад, розташованих на її вершинах, які складаються з гілок печінкової артерії, ворітної вени та жовчної протоки. Оскільки приблизно 75% крові до печінки потрапляє через систему ворітної вени, печінка постійно піддається впливу молекул, що надходять з кишечника, включаючи патогенні мікроорганізми та харчові антигени. Синусоїдальні капіляри значно уповільнюють рух крові в печінці, що згодом сприяє ефективному імунонагляду та виведенню токсичних метаболітів з крові [11]. Гепатоцити виконують багато класичних функцій печінки і залежать від непаренхіматозних клітин, таких як синусоїдальні ендотеліальні клітини печінки (СЕКП), печінкові дендритні клітини і печінкові імунні клітини-резиденти, які допомагають підтримувати стан гомеостазу [12, 13, 14] у відповідь на постійний вплив молекулярних патернів, пов'язаних з пошкодженням (DAMP) і патоген-асоційованих молекулярних патернів (PAMP).

Уже на п'ятому тижні розвитку ембріона людини печінка починає функціонувати як орган пренатального гемопоезу. Клітини ембріональної печінки мають високий проліферативний потенціал [15]. За відсутності сформованого тимуса, в печінці вже визначаються Т-клітини - близько 0,7% загальної кількості лімфоцитоподібних клітин. В епітеліальних клітинах

ембріонального тимуса виробляються регуляторні пептиди (тималини), які секретуються в кров ембріона і діють на клітини-попередники Т-лімфоцитів у печінці, забезпечуючи їх первинне диференціювання у вигляді появи поверхневого CD2-антигену (CD - clusters of differentiation).

Печінка також містить кілька типів резидентних клітин, що виконують антигенпрезентуючу функцію, тобто можуть захоплювати антигени, котрі проходять через печінку або виділяються у формі асоційованого з клітинами антигену, коли заражені патогеном гепатоцити гинуть. До постійних антигенпрезентуючих клітин належать клітини Купфера, синусоїдальні ендотеліальні клітини печінки, які представляють незвичний тип ендотеліальних клітин судин, і дендритні клітини [16]. Вважається, що всі три типи антигенпрезентуючих клітин мають вирішальне значення для підтримки толерантності в умовах, не пов'язаних із запаленням. Гепатоцити також можуть представляти антигени до Т-клітин, що інфільтрують печінку, але їх частіше розглядають як мішені для клітинних імунних відповідей, і їх роль у індукції первинних імунних відповідей менш зрозуміла [17].

Внутрішньопечінкові лімфоцити виявляються як в паренхімі, так і в порталних трактах [18]. CD8⁺ - і CD4⁺ - субпопуляції лімфоцитів взаємодіють з антигенами в контексті МНС (Major Histocompatibility Complex) I і II класу відповідно. Клітини CD8⁺ зазвичай перевищують кількість CD4⁺ клітин в печінці [19]. Кількість ефektorних клітин пам'яті в печінці вище, ніж у крові.

Дисфункція печінки і пошкодження гепатоцитів, індуковане нейтрофілами, були показані в цілому ряді робіт і експериментальних моделей, включаючи ішемію-реперфузію печінки, ендотоксичний шок, сепсис, алкогольний гепатит, механічний холестаза, травматичне ушкодження внутрішніх органів і токсичне ураження печінки. З іншого боку, поступове накопичення нейтрофілів в печінці не завжди супроводжується додатковим пошкодженням гепатоцитів, як це показано

при введенні гепатотоксичної дози ацетамінофену або пошкодження тканини печінки литохолевою кислотою [20]. Нейтрофіли можуть накопичуватися в синусоїдах, постсинусоїдних венулах або портальних венулах печінки. Незважаючи на експресію клітинних молекул адгезії (cell adhesion molecules - CAM) на синусоїдних або венулярних ендотеліальних клітинах, нейтрофіли накопичуються в синусоїдах, в основному, незалежно від CAM [21]. Нейтрофіли спочатку затримуються за рахунок механічних причин, внаслідок збільшення набряку ендотеліальних клітин, а також зниження реологічних властивостей крові [22]. З іншого боку, рух нейтрофілів і міцна адгезія в постсинусоїдних венулах або портальних венулах вимагає залучення селектинів і $\beta 2$ – інтегринів (Intracellular Adhesion Molecule 1 – ICAM-1).

Пошкодження паренхіматозних клітин, в основному, викликають нейтрофіли, які мігрують за межі синусоїдів. На процес накопичення нейтрофілів в синусоїдах впливає цілий ряд медіаторів – TNF- α (tumor necrosis factor), IL-1 α (Interleukin), IL-1 β , фактори активації комплементу, тромбоцитарний активуючий фактор, хемокіни, наприклад, IL-8, запальний білок в макрофагах, кератиноцитоутворюючий хемокін та інші. Крім цих класичних прозапальних медіаторів, існують інші, такі як група високорухливих білків, що вивільняються з макрофагів. Так, наприклад, один з цих білків, HMGB1, секретується макрофагами і інтенсивно вивільняється загиблими клітинами та може сприяти запальній реакції, активуючи нейтрофіли [21]. Нейтрофіли, що вийшли за межі судин, приєднуються до клітин-мішеней, тобто паренхіми. Їх з'єднання здійснюється за допомогою цілого ряду білків-інтегринів, локалізованих на нейтрофілах і відповідних їм рецепторів гепатоцитів, типу ICAM-1. Як результат – виникає окислювальний стрес і дегрануляція. Гепатоцити під впливом запальних медіаторів генерують хемокіни [22]. Нейтрофіли не атакують і не знищують нормальні гепатоцити *in vivo*, тобто вони не є пасивною мішенню для нейтрофілів. Негативний вплив останніх

проявляється при розвитку внутрішньоклітинного оксидативного стресу і при утворенні гіпохлорид-опосередкованих хлор-тирозинових білкових аддуктів. Оксидативний стрес, що модулюється нейтрофілами, може індукувати мітохондріальну дисфункцію в гепатоцитах, яка додатково ініціює розвиток оксидативних пошкоджень в мітохондріях. Оскільки це порушує проникність мітохондріальної мембрани, виникає енергетичний колапс, що призводить до онкотичного некрозу [21, 22].

Таким чином, здійснюване нейтрофілами пошкодження паренхіматозних клітин в печінці ініціюється праймінгом і подальшим накопиченням нейтрофілів у печінкових судинах, особливо у синусоїдах. Ця початкова стадія опосередковується прозапальними медіаторами, такими як цитокіни, хемокіни, фактори комплементу та ін. Якщо нейтрофіли в результаті праймінгу отримали хемотаксичний сигнал від паренхіми, клітини виходять із судин. Адгезія запускає утворення супероксид-аніону і дегрануляцію з вивільненням мієлопероксидази і протеаз.

Як показано в багатьох роботах [23, 24], основну роль у продукції сполучної тканини в печінці відіграють зірчасті клітини (клітини Іто, названі на честь дослідника, що вперше їх описав), які знаходяться в тісному функціональному зв'язку з гепатоцитами і макрофагами печінки - клітинами Купфера. У фізіологічних умовах клітини Іто знаходяться в стані спокою і утворюють депо ретиноїдів, також вони секретують протизапальний цитокін ІЛ-10, який знижує рівень активності клітин Купфера. В результаті пошкодження гепатоцитів при різних негативних впливах, у тому числі при ураженні гепатотропними вірусами, із зруйнованих клітин виділяється комплекс біологічно активних сполук. Вони активують макрофаги печінки, а також ендотеліальні клітини синусоїдів [25]. Ті, в свою чергу, починають секретувати біологічно активні речовини, що викликають активацію зірчастих клітин. До подібних речовин відносяться прозапальні цитокіни (ІЛ-1, TNF- α , оксид азоту, ендотелін,

тромбоцит активуючий фактор (PDGF), активатор плазміногену, що трансформує фактор росту- β 1 (TGF- β 1) [26]. Загальний принцип регуляції полягає в тому, що спочатку клітини Іто готуються (комітуються) до синтезу позаклітинного матриксу такими цитокінами, як IL-1 або GM-CSF (гранулоцит-моноцит-колонієстимулюючий фактор), і лише після цього починають активно синтезувати колаген під дією промоторів типу PDGF або TGF- β .

В результаті активації клітин Купфера та Іто, за рахунок продукції ними колагену, ініціюється процес фіброгенезу печінки, відбувається формування важких форм хронічних гепатитів і трансформація їх в цироз [27]. Фіброз печінки є найбільш частою реакцією печінки на токсичні, інфекційні або метаболічні агенти [28]. При індукції цього процесу збільшується кількість компонентів плазматичних мембран, що призводить до постійного зростання мембраноподібних структур у просторі Діссе і зменшення кількості ендотеліальних синусоїдних пор. Як результат, виникає комплексний процес, який називається «синусоїдна капіляризація». На клітинному рівні печінковий фіброгенез ініціюється некрозом гепатоцитів, який сприяє залученню великої кількості клітин запалення, включаючи тканинні базофіли, які можна вважати первинними ефекторами процесу зміни синусоїдних ендотеліальних клітин в капілярний тип ендотеліальних клітин [29].

Сучасні знання про СЕКП людини обмежуються імунофлюоресценцією, проточними цитометричними дослідженнями [30], об'ємними дослідженнями РНК-послідовностей на сортованих СЕКП та функціональними властивостями, оціненими під час коротких культур *in vitro* [13]. Ендотелій судин печінки, що складається з СЕКП, забезпечує динамічний бар'єр між кров'ю та мікросередовищем печінки. СЕКП визначаються як ендотелії-поглиначі, які використовують опосередкований клатрином ендоцитоз. Ендотеліальні клітини в судинах різної локалізації утворюються зі спільних ранніх ембріональних попередників і мають

загалом схожий гістологічний вигляд та функціональну роль в організмі. Однак, значні варіації фенотипу та функції виникають як наслідок локальних сигналів мікрооточення, що залежать від анатомічної локалізації. Судинна архітектура печінки людини формується до 17-25 тижня вагітності, проте різні судини в печінці мають певне ембріональне походження. Портальні судини походять від вітелінових вен, тоді як синусоїди розвиваються з капілярних судин поперечної перегородки і набувають свого характерного фенестрованого фенотипу до 20-го тижня гестації під контролем транскрипційного фактора GATA4 [31]. З цього моменту синусоїдні ендотеліальні клітини залишаються функціонально і фенотипічно відмінними від інших судинних ендотеліальних клітин в мікрооточенні печінки і набувають фенотип, який має багато спільного з лімфатичними ендотеліальними клітинами [32].

Синусоїдні ендотеліальні клітини печінки складають більшу частину непаренхіматозних клітин печінки (близько 55%). Хоча вони вистилають синусоїди так само, як судинні ендотеліальні клітини в артеріях, центральній і портальній венах, їхня морфологія досить сильно відрізняється, оскільки вони формують ситоподібний фенестрований ендотелій [12]. Однією з функцій синусоїдних клітин при впливі стимулюючих агентів, в тому числі вірусів гепатиту В і С, є участь у презентації антигену Т-лімфоцитам. Як результат взаємодії антиген-реактивних Т-клітин із синусоїдними клітинами печінки, Т-лімфоцити починають виділяти лімфокіни [33]. До них належать такі білки як IFN- γ , IL-2, лімфотоксин [34]. Лімфокіни посилюють експресію антигенів гістосумісності I і II типів, які необхідні для презентації антигену і залучення синусоїдних клітин у специфічну імунну відповідь. Крім того, синусоїдні клітини в процесі антигенпрезентації починають самостійно виробляти прозапальні цитокіни і таким чином стимулюють Т-клітини до активної участі в розвитку запалення. Взаємна стимуляція Т-клітин і синусоїдних клітин через секретовані ними цитокіни вважається однією з

причин персистування запального процесу. СЕКП експресують молекули, які полегшують захоплення антигенів, включаючи рецептор для манози і скавенджер-рецептор, молекули, що полегшують презентацію антигенів, включаючи ко-стимулюючі молекули CD40, CD80 і CD86 [35]. Разом з іншими ретикулоендотеліальними клітинами вони формують захисну систему печінки, хоча фагоцитарна здатність у них виражена слабше, ніж у клітин Купфера, особливо щодо структурованих частинок. Синусоїдальні клітини функціонують як основний фільтраційний бар'єр, забезпечуючи вибіркоче потрапляння в печінку необхідних компонентів із крові. Патологічні зміни синусоїдальних клітин відбуваються, головним чином, при токсичних гепатитах і проявляються у вигляді «пінної» вакуолізації цитоплазми [12].

Резидентні печінкові дендритні клітини утворюються в кістковому мозку і, зазвичай, локалізуються біля центральних вен і портальних трактів [36]. Вони можуть перебувати у двох станах: незрілому і зрілому. Незрілі дендритні клітини не здатні представляти антигени і стимулювати Т-лімфоцити, але енергійно поглинають антигени шляхом фагоцитозу, піноцитозу і опосередкованого рецепторами захоплення [37]. Зрілі дендритні клітини вже не захоплюють нові антигени, але набувають здатності представляти раніше поглинутий антигенний матеріал і індукувати клітинну відповідь, що пов'язано зі значним підвищенням експресії HLA і ко-стимуляторних молекул [38]. У здоровій печінці дендритні клітини зазвичай перебувають у незрілому стані, тобто схильні захоплювати і переробляти антигени [39]. Оскільки IL-10 і TGF- β конститутивно експресуються клітинами Купфера і СЕКП і є індукційними для зірчастих клітин, неінфікована печінка зберігає унікальне цитокінове мікрооточення, яке може підтримувати толерогенність резидентних дендритних клітин. Тому вони інгібують проліферацію і продукцію цитокінів активованими лімфоцитами, що інфільтрують тканини печінки. У результаті активації дендритні клітини

викликають гальмування рецепторів на мембранах цих клітин і, навпаки, збільшують їх здатність мігрувати через простір Діссе в лімфатичні і порталні тракти і, без сумніву, у позапечінкові лімфатичні вузли [36].

Макрофагам належить одна з ключових ролей у створенні лінії захисту організму. Реалізація цієї функції здійснюється за рахунок прямого механізму впливу: впізнавання, поглинання і знищення чужорідного об'єкта, а також за рахунок непрямого механізму – процесингу та подання антигенних детермінант Т-лімфоцитам [24].

Макрофаги по-різному реагують на різноманітні стимули. [40]. Спочатку було виявлено, що інтерферон-гамма (ІФН- γ) стимулює макрофаги до екскреції прозапальних маркерів, високого рівня презентації антигенів, бактерицидної і тумороцидної активності [41]. Пізніше був описаний альтернативний фенотип активованих макрофагів, що не стимулюються ІФН- γ [42]. Натомість ця відповідь активується ІЛ-4, ІЛ-13, глюкокортикоїдами, трансформуючим фактором росту β (TGF- β), імунними комплексами та ІЛ-6 [42, 43]. Цей стимул призводить до активації протизапальних реакцій та експресії протизапальних маркерів. Крім того, цей тип макрофагів пов'язаний з відновленням тканин, ендокринною сигналізацією, ангіогенезом, ростом пухлин і метастазуванням [41, 43].

Макрофаги оснащені різноманітними рецепторами розпізнавання образів (PRR), які після активації запускають заздалегідь визначені програми у відповідь на стимули навколишнього середовища. Деякі прозапальні стимули включають патоген-асоційовані молекулярні патерни (PAMPs), клітинні або хімічні молекули, отримані від патогенів, або молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням (DAMPs), які вивільняються пошкодженими клітинами і злоякісними пухлинами. Ці сигнатури дозволяють макрофагам набувати відповідного функціонального фенотипу для відновлення фізіологічної рівноваги [44].

Кожна популяція тканинних макрофагів повинна адаптуватися до навколишнього середовища та виконувати специфічні для тканини функції,

щоб бути ефективними допоміжними клітинами. На підтвердження цього нещодавні дослідження профілювання мРНК виявили суттєві відмінності між окремими популяціями резидентних тканинних макрофагів [45, 46]. Тобто, незважаючи на загальні елементи, які притаманні усім підтипам тканинних макрофагів, включаючи залежність від фактора транскрипції PU.1 [47], кожен підтип тканинного макрофага має власний унікальний профіль експресії генів, який, ймовірно, дозволяє йому функціонувати в синергії з тканиною, в якій він перебуває [48]. Як свідчать дані з ряду досліджень Bennett H [48], враховуючи, що кожне тканинне середовище відрізняється унікальною комбінацією сигнальних факторів, ймовірно, що експресія генів у кожній відповідній популяції макрофагів знаходиться під контролем окремих комбінацій сигнал-залежних факторів транскрипції (signal-dependent transcription factors SDTF). Крім того, також можливо, що сигнали навколишнього середовища контролюють експресію та діяльність факторів транскрипції, що призводить до вибору тканинспецифічних підсилювачів. Розбіжності в експресії генів між різними підвидами макрофагів, виявлені за допомогою RNA-seq-аналізу, позначають важливі відмінності у тому, як ці клітини можуть організовувати та/або використовувати свої можливості «енхансерів».

У своїх роботах Mungai PJ [49] звертає увагу на той факт, що поляризація макрофагів на різні фенотипи, схоже, форматує варіанти їх відповіді і утворює певні «кластери», відповідно до отриманих стимулів. Залежно від спектру сигналів мікрооточення, кількості вироблених цитокінів і тривалості впливу, макрофаги реагують, активуючи специфічні функції, й при цьому кожна підгрупа макрофагів демонструє певний стан поляризації. Ця поляризація типово поділяється на дві основні програми: класично активовані макрофаги (або M1) та альтернативно активовані макрофаги (або M2). Кожен підвид пов'язаний зі специфічними імунними реакціями, серед яких вплив на процеси запалення є протилежним.

Міллс та його колеги у 2000 році ввели термінологію M1/M2 [50], де M1 – це класично активовані прозапальні макрофаги, а M2 – альтернативно активовані протизапальні макрофаги. Вони вивчали метаболізм L-аргініну в макрофагах, який виявив дихотомію, подібну до тієї, що була виявлена для T-хелперів, оскільки в макрофагах у мишей було продемонстровано два конкурентних метаболічних стани при дії Th1 або Th2 стимулів [51, 52]. Th1-стимульовані макрофаги (INF- γ та/або ЛПС) призводили до посилення регуляції синтетази оксиду азоту (iNOS), яка окислює L-аргінін до оксиду азоту та L-цитруліну. З іншого боку, аргіназа-1 була підвищена в Th2-стимульованих макрофагах (IL-4 або IL-13), таким чином метаболізуючи L-аргінін до L-орнітину та сечовини. Однак інші M2-стимулятори, такі як IL-10, TGF- β і глюкокортикоїди, не вписувалися в цю дихотомію, оскільки вони не ідентичні Th2-відповіді. Тому макрофаги M2 були додатково класифіковані на M2a – індуковані IL-4 та IL-13, M2b – індуковані імунокомплексами та лігандами toll-подібних рецепторів (TLR) або IL-1R, M2c – індуковані IL-10 та глюкокортикоїдами [53], та M2d – індуковані IL-6 [54] та аденозинами [55].

Кластер диференціювання 68 (CD68), також відомий як GP110, LAMP4 або SCARD1 – це трансмембранний глікопротеїн 110 кДа, який широко експресується в моноцитарних клітинах, таких як макрофаги, мікроглія та остеокласти [56]. За допомогою імуноелектронної мікроскопії CD68 було локалізовано в ендосома- або лізосомоподібних структурах. Відповідно, послідовність CD68 демонструє гомологію до сімейства лізосомальних/плазматичних мембранних білків-шатлів, що належать до групи lamp 1 (human lamp-1,12 mouse lamp-1,13). Ці білки є основними компонентами лізосомальних мембран і переміщуються у везикулах між лізосомами, ендосомами та плазматичною мембраною. Хоча внутрішньоклітинна функція lamp невідома, повідомлялося про їхню позаклітинну роль як презентаторів вуглеводних лігандів до селектинів [57, 58].

CD68 відіграє важливу роль у різних фізіологічних і патологічних процесах, включаючи формування атеросклерозу, процеси запалення та автоімунітету, сприяння резорбції кісткової тканини та прогресії пухлин [59].

Трансмембранний скавенджер рецептор CD163 експресується виключно в моноцитах (низька експресія) і макрофагах (висока експресія) [60]. Протизапальні цитокіни, такі як IL-6 та IL-10, індукують експресію CD163, тоді як запальні стимули, такі як IL-4, TNF- α , IFN- γ та LPS, пригнічують її [61]. Популяція CD163⁺ макрофагів асоціюється з протизапальними функціями завдяки стимульованій експресії протизапальними цитокінами та здатності продукувати протизапальні метаболіти гему після CD163-опосередкованого поглинання гемоглобіну [60, 61]. Крім того, повідомляється, що CD163 зв'язує і руйнує запальний цитокін - фактор некрозу пухлин, подібний до слабкого індуктора апоптозу [62], а також розпізнає і опосередковує місцеву імунну відповідь на бактерії [63] та інтерналізує вірус [64]. CD163 часто використовується як маркер M2 [65].

Експресія CD163 змінюється при ряді захворювань. В атеросклеротичних бляшках сонних артерій рівень CD163⁺ макрофагів корелює з прогресуванням бляшки і спричиняє підвищений ризик інфаркту міокарда та ішемічної хвороби серця [66]. При вовчаковому нефриті інфільтрація CD163⁺ макрофагами асоціюється з порушенням функції нирок і корелює з індексом активності [67, 68]. У дітей з неалкогольним стеатогепатитом рівень CD163 значно підвищений [40]. Однак експресія CD163 не змінюється в синусоїдах печінки у дорослих з неалкогольним стеатогепатитом і без нього [69]. При прогресуванні запалення кількість CD163⁺ макрофагів збільшується, що, ймовірно, пов'язано як зі зміною фенотипу місцевих макрофагів, так і з макрофагальним дозріванням рекрутованих моноцитів.

Тривалий дисбаланс функцій макрофагів може бути патогенним і призводити до хронічних запальних та аутоімунних захворювань, а також фіброзу [41, 70].

1.2 Печінковий гомеостаз

Печінка виконує величезну кількість функцій, включаючи синтез білка, метаболізм глюкози та ліпідів (глюконеогенез, накопичення глікогену, ліпогенез, β -окислення жирних кислот та метаболізм ліпопротеїдів), детоксикацію та вироблення жовчі [71]. Подальші продукти метаболізму можуть прямо чи опосередковано активувати імунологічні сигнальні шляхи та сприяти місцевим реакціям, включаючи функціонування, проліферацію, міграцію та життєздатність [72]. Функціональність печінки безпосередньо пов'язана з мікробним впливом, насиченням киснем і забезпеченням поживними речовинами, яке змінюється у вигляді градієнта вздовж синусоїди і сприяє клітинній гетерогенності. Імунні клітини є додатковим рівнем комплексної інтеграції, який формує функціональну та транскрипційну різноманітність паренхіми печінки. Чітке розуміння ідентичності імунних клітин, їхньої функції та зональності в нормі та при захворюваннях печінки, необхідне для того, щоб по-справжньому розшифрувати складність цього органу та використати імунні клітини печінки для підтримки гомеостазу й регенерації [73].

Імунне мікрооточення печінки. Печінка збагачена клітинами вродженої та адаптивної імунної систем, які підтримують толерантність у стані гомеостазу і можуть виступати посередниками при запаленні та пошкодженні печінки під час хвороби. Адаптивні імунні клітини, які містяться в печінці, включають Т-клітини, такі як регуляторні Т-клітини (Tregs), цитотоксичні Т-лімфоцити (CTL) і Т-хелпери 1, 2, 17 і 22 типів (Th1, Th2, Th17 і Th22) [74, 75], на додаток до популяцій В-клітин і плазматичних клітин. Tregs відіграють важливу роль у печінковій толерантності з експресією ряду імунорегуляторних маркерів, таких

як цитотоксичний Т-лімфоцит-асоційований білок 4 (CTLA-4), CD39 та ген активації лімфоцитів 3 (LAG-3). Tregs секретують IL-10 [76], який є центральним медіатором толерогенного середовища печінки, завдяки своїм протизапальним властивостям і ролі в стримуванні імунопатогенезу [77], а також експресується і розпізнається багатьма імунними та неімунними клітинами в печінці [78]. Печінкові Tregs також працюють у синергії з клітинами вродженого імунітету печінки, такими як клітини Купфера [79].

Клітини Купфера є резидентними макрофагами печінки і відіграють важливу роль в її нормальній фізіології і гомеостазі, а також беруть участь у гострій та хронічній відповіді печінки на надходження до неї токсичних сполук. Активація клітин Купфера введенням токсичних агентів прямо або опосередковано веде до вивільнення запальних медіаторів і активних форм кисню [80]. Клітини Купфера - найбільш численна група фіксованих макрофагів в організмі, що становлять близько 20% всіх клітин печінки і локалізуються у судинному просторі синусоїдів, переважно в перипортальній ділянці [81]. Також ці клітини проходять через простір Діссе, здійснюючи прямий контакт та фагоцитуючи апоптичні гепатоцити [82]. Клітини Купфера активуються різними бактеріальними стимулами, включаючи ліпополісахариди (ЛПС) та бактеріальні суперантигени. Цитокіни, що ними виробляються, відіграють ключову роль у модулюванні диференціації та проліферації інших клітин. У відповідь на фізіологічні концентрації ЛПС продукуються TNF- and IL-10, які пригнічують рецепторно-опосередковане поглинання антигенів та експресію МНС II на синусоїдних клітинах і дендритних клітинах, а також знижують активацію Т-лімфоцитів. Процес активації макрофагів запускає синтез і вивільнення розчинних факторів широкого спектру, включаючи цитокіни, хемокіни, ростові фактори, метаболіти циклооксигенази і ліпоксигенази, активні форми кисню (супероксид-аніон, перекис водню і окис азоту), які забезпечують паракринні ефекти на всі інші типи клітин печінки і модулюють ураження печінки. Результатом може виявитися не тільки гостре пошкодження гепатоцитів, а й хронічне ураження тканини печінки, включаючи

розвиток пухлинного процесу внаслідок індукції проліферації клітин печінки [83, 84, 85].

Незважаючи на те, що вроджені клітини печінки формуються в толерогенному середовищі у процесі гомеостазу, вони беруть участь у знешкодженні поширених PAMPs і DAMPs [86, 87]. Наприклад, КК відіграють центральну роль у підтримці гомеостазу печінки шляхом фагоцитозу, видалення мертвих і відмираючих клітин та відновлення тканин [88, 89, 90]. У мишей КК також продукують імуносупресивні метаболіти, такі як простагландин E2 (PGE2) та IL-10 [91].

Гуморальна регуляція функцій печінки. Чоловіки більше ніж жінки (у пременопаузальному віці) схильні до спричиненого дієтою накопичення жирових відкладень у печінці (стеатозу), прогресування неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП), фіброзу печінки та гепатоцелюлярної карциноми. [92, 93]. Статеві відмінності в експресії генів печінкою, в першу чергу, контролюються залежними від статі патернами секреції гормону росту гіпофіза (GH) [94]. Однак зв'язок між гендерними відмінностями в експресії генів, що регулюються GH, і особливостями метаболічних захворювань печінки, які часто пояснюють прямим впливом стероїдів гонад, є недостатньо вивченим [95].

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) і захворювання щитоподібної залози широко поширені у всьому світі і, як зазначалося, зустрічаються як коморбідні стани у 22,4% пацієнтів з НАЖХП [96]. Гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдна вісь відіграє важливу роль у багатьох метаболічних процесах, особливо тих, що стосуються обміну ліпідів і вуглеводів. Тиреоїдні гормони (ТГ) регулюють численні метаболічні процеси в різних системах організму (печінці, жировій тканині, нервовій, серцево-судинній та кістково-м'язовій системах), модулюючи метаболізм глюкози та ліпідів. У печінці вони сприяють виведенню та окисленню ліпідів, а також ліпогенезу *de novo*, контролюють чутливість печінки до інсуліну та пригнічують печінковий глюконеогенез [97]. Всі вищезгадані ефекти ТГ

регулюються двома механізмами:: по-перше, через селективні печінкові рецептори ТГ діють безпосередньо на експресію генів; по-друге, в асоціації з ядерними рецепторами, такими як рецептор, що активує проліферацію пероксисом (PPAR) та печінковий X-рецептор [98].

Відсутність андрогенних рецепторів (AR) у чоловіків сприяє підвищенню резистентності до інсуліну, що може сприяти розвитку діабету 2 типу [99]. Печінковий андрогенний рецептор, як позитивний фактор, також може відігравати важливу роль у запобіганні розвитку інсулінорезистентності [100]. Як припускають автори, «стратегії, спрямовані на підвищення активності AR саме в печінці за допомогою тканинно-селективних модуляторів, можуть, таким чином, покращити чутливість печінки до інсуліну та лептину, а також поліпшити гомеостаз ліпідів та глюкози».

Захворювання печінки. При ураженні печінки будь-якої етіології пошкодження клітини виникає внаслідок, принаймні, одного з наступних механізмів: 1) пошкодження плазматичної мембрани і порушення цитоскелету; 2) дисфункції мітохондрій; 3) порушення внутрішньоклітинного іонного гомеостазу; 4) активації лізосомальних ферментів; 5) надмірної активації перекисних процесів в результаті невідповідності прооксидантних і антиоксидантних ресурсів клітини. У кожному з цих механізмів діяльну участь беруть клітини імунної системи (лімфоцити, макрофаги, клітини Купфера, клітини Іто).

Хронічні захворювання печінки є важким тягарем для глобальної системи охорони здоров'я і спричиняють близько 2 мільйонів смертей на рік у всьому світі [101]. Основними етіологічними чинниками хронічних захворювань печінки є вірусні (гепатит В та гепатит С), алкогольний стеатогепатит та неалкогольний стеатогепатит, а також аутоімунні та генетичні захворювання. Фіброз органів характеризує прогресування патологічного процесу при хронічних запальних захворюваннях і є причиною 45% смертності від усіх причин у світі [102]. Так, рівень фіброзу корелює з функцією печінки і є основним фактором ризику розвитку гепатоцелюлярної карциноми [103, 104].

Менше з тим, хронічна портальна гіпертензія внаслідок фіброзу печінки є основною причиною клінічних ускладнень, включаючи гідропічну декомпенсацію та кровотечі, а також печінкову енцефалопатію [103]. Як наслідок, цироз печінки наразі є 11-ю найпоширенішою причиною смерті у світі [101] та четвертою найчастішою причиною смерті серед дорослого населення у Центральній Європі [105].

Фіброз печінки характеризується прогресуючим накопиченням позаклітинного матриксу, який руйнує фізіологічну архітектуру печінки [106]. Патогенетично токсичні, метаболічні або вірусні захворювання призводять до пошкодження гепатоцитів та інфільтрації імунних клітин, які активують трансдиференціацію печінкових зірчастих клітин у міофібробласти, що продукують колаген [107, 108]. Фізіологічно цей процес задіяний у відновленні тканин, тому при короткочасному пошкодженні врівноважується протидією антифіброзних механізмів, що призводить до інактивації або апоптозу міофібробластів і розсмоктування рубця. На відміну від цього, при хронічних захворюваннях печінки дисбаланс профіброгенних та антифіброгенних механізмів спричиняє постійну активацію проліферуючих, скоротливих та мігруючих міофібробластів, що призводить до надмірної продукції позаклітинного матриксу [107, 108]. Подальший перебіг захворювання печінки - перехід у стадію розсмоктування фіброзного рубця або у стадію, що сприяє фіброзу – регулюється переважно непаренхіматозними клітинами, включаючи клітини Купфера та інші імунні клітини [109, 110, 111].

Таким чином, апоптоз гепатоцитів і вивільнення гепатоцитами асоційованих з ушкодженням патернів (DAMPs) не тільки безпосередньо активують зірчасті клітини, але й індукують рекрутинг і активацію лімфоцитів і макрофагів, які сприяють транс-диференціюванню зірчастих клітин і активації міофібробластів шляхом вироблення прозапальних і профіброгенних цитокінів [112, 113].

Як відображено у низці робіт [114], протеїни MRP8 (S100A8) і MRP14 (S100A9), як і інші білки S100, експресуються тканинно/клітинноспецифічно. Їх

експресія, схоже, обмежена певною стадією мієлоїдного диференціювання, оскільки обидва білки експресуються в циркулюючих нейтрофілах і моноцитах, але не у нормальних тканинних макрофагах. Вони відсутні в лімфоцитах, а в моноцитах периферичної крові їх експресія знижується під час дозрівання до макрофагів.

Унікальні структури S100A8/A9 наділяють їх потенціалом для виконання різних ролей, які залежать від концентрації, посттранскрипційних модифікацій, а також від мікрооточення [115]. Окрім здатності стимулювати залучення лейкоцитів і секрецію цитокінів, позаклітинні S100A8/A9 також виявляють протизапальні властивості за певних умов, й це дозволяє припустити, що ці білки сприяють гомеостазу під час запалення. Ба більше, S100A8/A9 виконує антимікробну функцію та бере участь у модуляції клітинної проліферації, диференціації та апоптозу [116]. Припускають, що внутрішньоклітинний S100A8/A9 є Ca^{2+} -сенсором: зв'язування з Ca^{2+} змінює його конформацію і модулює Ca^{2+} -залежну сигналізацію. Крім того, S100A8/A9 виконує як регуляторні, так і захисні функції в цитозолі. S100A8 і S100A9 опосередковують швидку перебудову цитоскелету, що є передумовою успішної клітинної міграції, фагоцитозу та екзоцитозу [117].

При метаболічних запальних захворюваннях, таких як подагра, діабет та ожиріння, S100A8/A9 секретується і розподіляється у специфічний для кожного захворювання спосіб, а підвищені рівні S100A8/A9 були виявлені в сироватці крові та ділянках запалення. У хворих на подагру нейтрофіли мігрують до уражених подагрою суглобів і секретують S100A8/A9, що прискорює запалення [118].

Експресія S100 підвищується у пацієнтів з діабетом I типу. Так, високі рівні експресії спостерігаються в ендотеліоцитах судин сітківки, лейкоцитах, фібробластах і скловидному тілі пацієнтів з проліферативною діабетичною ретинопатією [119].

В той же час, спостерігається вражаюче зниження експресії S100A8 і S100A9 в CD11c+ клітинах, що оточують амілоїдні бляшки і можуть відігравати корисну імуномодулюючу роль при хворобі Альцгеймера [120].

1.3 Характеристика гонадотропін-релізинг гормонів

За даними наукових джерел, гонадотропін-релізинг-гормон за хімічною будовою є декапептидом, що синтезується клітинами в гіпоталамусі і взаємодіє з рецепторами гіпофізарних гонадотропоцитів. Як результат впливу на рецептори, виникає підвищений синтез і виділення фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів, що, відповідно, стимулюють продукцію статевих гормонів, естрогену та тестостерону. Синтез релізинг-гормону корелюється з рівнем статевих гормонів у крові. Тобто, при використанні речовин-агоністів гонадотропін-релізинг-гормону першочергово виникає тимчасове зростання рівня статевих гормонів, проте згодом синтез фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів пригнічується, що призводить до пониження рівня естрогену та тестостерону [121, 122].

На сьогодні доведено ефективність використання синтетичних аналогів гонадотропін-релізинг-гормону з метою регуляції синтезу статевих гормонів, оскільки вони мають триваліший та потужніший вплив, порівняно з природнім гормоном. У результаті дії антагоністів релізинг-гормону на гонадотропоцити гіпофізу не виникає різкого гормонального сплеску, як при введенні агоністів. Їх вплив призводить лише до пригнічення синтезу та зменшення виділення фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів [123].

Як відомо, і антагоністи і агоністи гонадотропін-релізинг-гормону призводять до зменшення синтезу андрогенів і естрогенів, а тому можуть використовуватися для депривації синтезу андрогенів у випадку раку передміхурової залози. Також можливе їх призначення при лікуванні захворювань, які реагують на гормональне пригнічення, а саме міоми матки, ендометріозу, безпліддя та передчасного статевого дозрівання. До агоністів

гонадотропін-релізинг-гормону належать леупролід, гістрелін, гозерелін, трипторелін, та дегарелікс, що має переважно властивості антагоніста [124].

До препаратів, що використовуються на сьогоднішній день у лікувальних схемах (як агоністи так і антагоністи гонадотропін-релізинг-гормону) належать: гістрелін (Supprelin, Vantas: 1991 і 2004), лейпроелін (Lupron: 1985), гозерелін (Zoladex: 1989), трипторелін (Trelstar: 2000) і дегарелікс (Firmagon: 2008). Деяким з них притаманна пролонгована дія, їх можна вводити через інтервали в 1, 3, 6 або навіть 12 місяців. Усі препарати без виключень вводяться парентерально (підшкірно, внутрішньом'язево або інколи внутрішньовенно). Переважно, ці препарати використовують для лікування розповсюдженого раку передміхурової залози. Також можливе їх застосування при гендерній дисфорії, безплідді та передчасному статевому дозріванні [125, 126].

Сучасна урологічна практика з метою андрогендеприваційної терапії за рекомендаціями Європейської асоціації урологів [127] широко використовує препарат Трипторелін (Арвекап, Паморелін, Декапептил, Диферелін), що був розроблений у 1980-х роках у лабораторії французької компанії «Beaufour Ipsen». Цей препарат є синтетичним аналогом гонадотропін-релізинг гормону і за хімічною будовою є поліпептидом.

До розробки та синтезу синтетичних аналогів гонадотропін-релізинг гормону блокування синтезу тестостерону відбувалося шляхом двобічної орхіектомії. Відкриття такого препарату як трипторелін, що у 100 разів потужніший за природній гонадотропін-релізинг гормон, створило передумови для нового методу хімічної кастрації, що реалізується внаслідок пригнічення гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної вісі [128].

Трипторелін використовують у якості основного засобу при паліативному лікуванні гормонозалежного раку передміхурової залози. Ефективність препарату досягається при зниженні рівня тестостерону до показників, які зазвичай отримували в результаті хірургічної кастрації. Водночас відбувається як пригнічення синтезу гонадотропних гормонів гіпофізу, так і зниження функціональної активності рецепторів. Гіпоандрогенне середовище, що

виникає в результаті, викликає зменшення розмірів пухлини та збільшення відсоткового співвідношення інтерстиційної тканини в гонадах [129].

Клінічна ефективність препарату та його безпечне використання доведені і при лікуванні інших онкологічних захворювань: міоми матки, ендометріозу та комплексному лікуванні безпліддя. Максимальна концентрація препарату в крові відмічається протягом години після введення. Препарат не зв'язується з білками плазми крові, при цьому може проникати через гемато-плацентарний бар'єр та в грудне молоко.

Метаболізм триптореліну на сьогодні у людини остаточно не вивчений. Проте відомо, що період напівжиття препарату триває 6-9 годин. Після введення препарату спостерігається короткочасна стимуляція секреції фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів, що, у свою чергу, призводить до підвищення рівня тестостерону, який досягає максимальних показників приблизно на 4 добу з моменту введення. Тривалий прийом препарату призводить до зменшення тестостерону у крові до рівня посткастраційних показників у чоловіків [130].

При використанні препаратів, як агоністів так і антагоністів гонадотропін-релізинг гормону, серед побічних ефектів найбільш поширеними є симптоми гіпогонадізму (зниження лібідо, гінекомастія, еректильна дисфункція). При тривалій терапії цими препаратами відмічаються метаболічні розлади (збільшення ваги, втома, затримка рідини), прогресування симптомів діабету та остеопорозу. На початкових стадіях лікування, як результат підвищення рівня тестостерону, може відмічатися короткочасне погіршення симптомів раку передміхурової залози. При використанні гістреліну і госсереліну спостерігалися поодинокі випадки ураження печінки [131, 132].

За сучасними науковими джерелами аналоги гонадотропін-релізинг-гормону використовуються також при лікуванні раннього або передчасного статевого дозрівання. Загалом препарат переноситься добре, проте можливі побічні реакції. У 10-15% пацієнтів, під час лікування виникали місцеві побічні ефекти. До таких можна віднести формування стерильного абсцесу або

гематоми у ділянці введення препарату. Може спостерігатися тремор рук, нудота, ригідність скелетних м'язів, шкірні висипання, кропив'янка. Дуже рідко спостерігаються анафілактичні реакції [133, 134].

Групою дослідників проводилося порівняння ефективності, тривалості дії та побічні реакції при внутрішньом'язевому введенні триптореліну та лейпрореліну ацетату. Під час експериментального дослідження було встановлено, що вплив на синтез естрогену, лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого гормонів перебуває майже на одному рівні. Також не було встановлено істотних відмінностей у впливі на ліпідний обмін та функціональні показники печінки, виникненні симптомів менопаузи. Проте відновлення функціональної активності яєчників та менструального циклу відмічалось дещо раніше при використанні лейпрореліну ацетату. Тобто, можна зробити висновок, що дія триптореліну триваліша і він може використовуватися протягом довших проміжків часу [134].

Фармакокінетика при внутрішньовенному введенні триптореліну залежить від розподілу та виведення препарату за участі печінки та нирок. Введення препарату призводить до стимуляції секреції обох гормонів – лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого, із паралельним підвищенням рівня тестостерону у перші чотири дні. При постійному впливі триптореліну відбувається поступове зниження рівня тестостерону до показників еквівалентних посткастраційним. Препарат вводять протягом трьох місяців. Можливе використання підшкірних ін'єкцій, проте такий шлях введення підходить не кожному пацієнту. Відмічають достатньо високий ризик виникнення кровотечі та утворення гематом, особливо у пацієнтів, які приймають антикоагулянти. Діапазон введення препарату становить від 12 тижнів до 6 місяців [135].

Дослідження побічних реакцій при використанні триптореліну виявило поодинокі випадки негативного впливу препарату на функціонування щитоподібної залози. У сучасних наукових джерелах описані випадки нетривалого транзиторного гіпертиреозу після використання триптореліну.

Після введення препарату через 2 тижні відбувалося зниження рівня тиреотропного гормону. При проведенні аналізу на виявлення специфічних тиреоїдних аутоантитіл було встановлено, що позитивними були тиреоїдні аутоантитіла та тиреоглобулінові аутоантитіла та негативними - аутоантитіла до тиреотропного рецептора. Нормалізація функції щитоподібної залози відбувалася за чотири тижні після введення триптореліну. Гіпертиреоз, вірогідно, міг бути спричинений початком аутоімунного тиреоїдиту, що потребує моніторингу функції щитоподібної залози при використанні триптореліну, особливо у жінок [133].

Серед даних літератури є інформація стосовно того, що деякі аналоги гонадотропін-релізинг гормону можуть викликати тимчасове підвищення рівня ферментів печінки у сироватці крові під час терапії, але не було виявлено переконливої причетності жодного з них до клінічно значущого ураження печінки із супутньою жовтяницею [136].

1.4 Вплив флавоноїда кверцетина на ряд патологічних станів

Флавоноїд кверцетин міститься у овочах, фруктах та має широкий спектр впливу на різноманітні процеси у клітинах. До спектру його дії можна віднести протизапальний та противірусний, антиканцерогенний вплив, пригнічення перекисного окислення ліпідів, проникності капілярів та агрегації тромбоцитів, стимуляцію мітохондріального біогенезу, підвищення фізичної та розумової активності з активізацією резервних сил організму [137, 138, 139]. Кверцетин є одним із найпоширеніших флавоноїдів у щоденному раціоні людини. У рослинній їжі зустрічається у формі глікозиду [140].

Велику зацікавленість науковців викликає здатність кверцетину вибірково знешкоджувати старіючі клітини. Відомо, що в організмі існують клітини більш стійкі до апоптозу, здатні до впливу на антиапоптотичні шляхи. Як результат – вони стають причиною розвитку ряду хронічних захворювань.

Кверцетин, як сенолітик, здатен тимчасово пригнічувати фенотип, пов'язаний зі старінням і викликати апоптоз старіючих клітин [141].

Під час досліджень в експерименті було відмічено позитивний вплив кверцетину на перебіг різних патологічних станів. А саме, його здатність запобігати розладам метаболізму та ускладненням після трансплантації органів та променевої терапії, зменшення агресивності проявів онкологічних захворювань. Відносно недавно було розпочато клінічні випробування призначення препарату при ідіопатичному легеневому фіброзі, хворобі Альцгеймера, COVID-19, остеоартриті, остеопорозі, цукровому діабеті, захворюваннях сітківки і трансплантації кісткового мозку у дітей [142].

Терапевтична практика з використанням флавоноїдів належить до прогресивних напрямків сучасної медицини. Переважна більшість наукових досліджень на сьогодні безпосередньо зацікавлена вивченням позитивного впливу на процеси старіння [143].

Під час вивчення впливу кверцетину на процес диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин червоного кісткового мозку було виявлено, що цей препарат активізує маркери утворення остеобластів, а саме – проліферацію клітин, позаклітинну мінералізацію і активність лужної фосфатази. Одночасно відмічалось пригнічення диференціювання цих клітин в адипоцити [144, 145].

Також існують дані щодо сприятливого впливу кверцетину на перебіг метаболічного синдрому, ожиріння та захворювань серцево-судинної системи [146, 147].

Необхідно згадати про використання кверцетину при злоякісних захворюваннях крові. Відомо, що для лікування гострого мієлобластного лейкозу використовують етопозид. Серед побічних ефектів цього препарату відмічається пригнічення мієлопоезу. Ряд експериментальних досліджень встановив, що етопозид викликає підвищення окисного ураження ДНК у гемопоетичних клітинах мієлоїдного ряду. Кверцетин, у свою чергу, здатний зменшувати окисне пошкодження ДНК, викликане етопозидом [148].

Поміж іншого, можливе використання кверцетину в якості профілактичного засобу для запобігання розвитку новоутворень: раку печінки, шийки матки, молочної залози, прямої кишки, передміхурової залози, шкіри. Протипухлинні властивості препарату базуються на його здатності до пригнічення активності канцерогенів [149, 150, 151, 152, 153].

Вивчення антиоксидантних властивостей кверцетину останнім часом все більше привертає увагу вчених [154]. Зокрема було доведено, що антиоксидантна активність кверцетину переважно залежить від регуляції та підтримки окислювального балансу. Він може впливати на активність ферментативних процесів, систему глутатіону, шляхи передачі сигналу, активні форми кисню, які виникають внаслідок впливу різноманітних патогенних чинників. Під час утворення вільних радикалів кисень перетворюється на перекис водню під впливом супероксиддисмутази. Подальше перетворення перекису водню на воду потребує глутатіону у якості донора водню, а кверцетин здатен індукувати його синтез [155, 156].

Кверцетин може пригнічувати оксидативний стрес, попереджаючи зменшення активності антиоксидантів. Основою оксидативного стресу є дисбаланс між оксидантами та антиоксидантами, що призводить до процесів окислення. В результаті окислення виникає запальна інфільтрація нейтрофілів, підвищується синтез протеази та інших проміжних окисних продуктів. Кверцетин здатен підтримувати баланс між окислювальним і антиоксидантним ефектами. Різноманітні наукові дослідження встановили, що кверцетин зменшував негативні прояви наслідків радіаційно-індукованого пошкодження мозку щурів, нейродегенеративних захворювань, нейропатії сітківки щурів при діабеті. Модулюючи та регулюючи рівень антиоксидантів, кверцетин захищає клітини мозку, нерви та інші клітини в організмі від пошкоджень, викликаних окисленням [157, 158].

Сучасна наукова література описує терапевтичний ефект кверцетину при різноманітних видах отруєння, у тому числі миш'яком [159], глікозидами з виноградної лози [160], кадмієм (Cd) [161], марганцем [162].

Велика кількість досліджень доводить доцільність використання кверцетину при діабеті II типу, некротичному коліті та ідіопатичному легеневому фіброзі [163, 164, 165].

У багатьох дослідженнях вивчалася біологічна активність кверцетину в лікуванні фіброзу печінки [166]. Результати аналізу їх результатів показали, що відповідні показники функції печінки були значно кращі в групі кверцетину порівняно з контрольною групою. Оцінка АСТ та АЛТ у підгрупах показала, що кверцетин чинить значний вплив на ці показники. Показано, що терапевтичний механізм кверцетину пов'язаний з кількома шляхами, що включають протизапальну та антиоксидантну активність і накопичення ліпідів, включаючи регуляцію TGF- β , α -SMA, АФК і P-AMPK [167, 168]. Отримані результати свідчать про очевидний вплив кверцетину на фіброз печінки, причому більш помітні ефекти покращення функції органу та показників фіброзу відмічалися при застосуванні кверцетину в дозі 5-200 мг протягом курсу лікування від 4 до 8 тижнів [169]. Таким чином, кверцетин може бути перспективним терапевтичним засобом для лікування фіброзу печінки [170].

Проведений огляд наукових джерел свідчить про брак інформації щодо впливу кверцетину на імунокомпетентні клітини печінки

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріал дослідження

Матеріалом для дослідження слугували тканини печінки, отримані від 60 дорослих самців білих щурів вагою (180-220) г. Білі щури, у якості об'єкта дослідження, є кращим варіантом для групового експерименту, під час якого можна отримати схожі або однотипні зміни [171].

Під час проведення досліджень були дотримані міжнародні правила та принципи Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [172], та «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001), а також Закон України №3447 “Про захист тварин від жорстокого поводження” IV від 21.02.2006 р [173]. Комісія з питань біоетики Полтавського державного медичного надала дозвіл на проведення науково-дослідної роботи (витяг з протоколу засідання комісії з етичних питань та біоетики № 245 від 22 січня 2026 року).

Дослідження виконане в рамках науково-дослідних тем кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925, роки виконання 2019-2023 та «Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріоплацентарного комплексу (ЕПК), дифереліну та кверцетину на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів» номер державної реєстрації № 0124U003358, роки виконання 2024-2028.

У якості об'єкта дослідження були обрані процеси та динаміка змін імунокомпетентних клітин печінки. Матеріал для дослідження був поділений на три групи: I група – контрольна, тваринам був введений фізіологічний

розчин; II група – тварини, яким вводився розчин триптореліну; III група – тварини, яким на тлі попередньо введеного триптореліну, призначався кверцетин (див. табл. 2.1).

Таблиця 2.1

**Кількість експериментальних тварин за групами
та термінами дослідження**

№ п/п	Терміни дослідження	Експериментальні групи дослідження			
		I група Контрольна	II група Введення триптореліну	III група Введення триптореліну і кверцетину	Всього
1.	1 місяць		5	5	10
2.	3 місяць		5	5	10
3.	6 місяць		5	5	10
4.	9 місяць		5	5	10
5.	12 місяць		5	5	10
6.	Всього тварин	10	25	25	60

Відбір тварин та експеримент проводили поетапно. На початку тварини були оглянуті - враховувався стан шкіри, рухова активність; потім витримувалися тиждень у карантині до початку проведення експерименту.

Тварини усіх груп утримувалися на загальному раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. При щоденному огляді оцінювали загальний стан, наявність та ступінь місцевих змін, вагу тіла та рівень летальності білих щурів [174].

Щоб уникнути впливу на експеримент добових та сезонних ритмів біологічної активності, дослідження проводили демісезонно, в ранковий час через 16 годин після останнього годування.

2.2. Методи дослідження та їх обґрунтування

Методи дослідження, що були використані:

- експериментальний метод – дослідження були проведені у створених штучно умовах:
- гістологічний метод – дослідження тканин печінки білих щурів;
- морфометричний метод – дослідження препаратів печінки білих щурів;
- біохімічний метод – дослідження ферментів циклу оксиду азоту в тканинах печінки білих щурів;
- імуногістохімічний метод – дослідження препаратів печінки білих щурів;
- статистичне опрацювання результатів дослідження з використанням пакета прикладних програм на комп'ютері.

2.2.1. Модель експерименту

Експериментальні методи дослідження були проведені у створених штучно умовах на базі віварію Полтавського державного медичного університету. Об'єктом дослідження були препарати печінки білих щурів.

I група – контрольна (10 тварин), формувалась за загальним принципом. Задля відтворення потенційної реакції тварин на фізичні подразнення при введенні препаратів (трипторелін та кверцетин), був використаний фізіологічний розчин.

II група – 25 тварин, яким вводили розчин триптореліну у дозі 0,3 мг активної діючої речовини на 1 кг маси тіла підшкірно, один раз на три місяці, з попередньою перевіркою маси тварин. Об'єм введеного розчину, розраховувався окремо, в залежності від маси тіла щура [175].

III група – 25 щурів, яким вводили розчин триптореліну у дозі 0,3 мг активної діючої речовини на кг маси тіла підшкірно, один раз на три місяці, з попередньою перевіркою маси тварин. На тлі введеного розчину триптореліну

використовували кверцетин. Цей препарат вводили за допомогою гастрального зонду перорально у вигляді водної суспензії три рази на тиждень. Дози вираховувались відповідним чином: 100 мг кверцетину на кг маси тіла щура, починаючи з першого дня експерименту, кожного разу відповідно враховуючи масу тіла тварини [176, 177].

Із експерименту тварин усіх груп виводили шляхом передозування ефірного наркозу згідно встановлених термінів на 1-й, 3-й, 6-й, 9-й, 12-й місяці (див. табл. 2.1).

2.2.2. Гістологічне дослідження тканин печінки білих щурів

Матеріал для мікроскопічного дослідження відбирали зразу після евтаназії у тварин усіх груп, відповідно до термінів проведення експерименту, з попереднім визначенням маси тіла. Шматочки печінки піддослідних щурів поміщали у відповідні фіксатори, залежно від подальших запланованих методів дослідження. Печінку ретельно відсепарували з наступною фіксацією матеріалу в 10% розчині нейтрального формаліну протягом 24-48 годин у щільно зачиненому посуді. Використання фіксуючого розчину запобігає розвитку аутолізу та стабілізує тканини та клітини для подальшого процесу забарвлення експериментального матеріалу. Шматочки печінки щурів розміром 5,0×5,0×5,0 мм в марлевій тканині рівномірно промивали протягом 1-2 діб. Структуру та метричні параметри тканин печінки визначали на парафінових зрізах [177]. Для виготовлення парафінових блоків використовувалася база Полтавського обласного патологоанатомічного бюро Полтавської обласної ради. Матеріал печінки щурів ущільнювали в парафін за загальною методикою та виготовляли зрізи на санному мікротомі МС-2 товщиною 4-5 мкм, які були забарвлені гематоксиліном і еозином [177, 178]. Гістологічні препарати досліджували за допомогою світлового мікроскопа Biorex 3 (серійний номер 5605) із цифровим мікрофільтром та програмним забезпеченням, що пристосоване для подібних досліджень.

Використовуючи стереоскопічний мікроскоп була виконана оцінка якості отриманих зрізів. Якісні зрізи товщиною 1-2 мкм знімалися зі спинки сухого леза з допомогою тонкого пінцета, потім переносилися на краплі 10% розчину ацетону на дистильованій воді, попередньо нанесені на предметні скельця, для забезпечення кращого розправлення і фіксації зрізів до поверхні скла. Для закріплення правильної послідовності розподілу серійних напівтонких зрізів був використаний принцип трафаретної розкладки, по 18 зрізів з одного кінця предметного скла. Втрати при такій методиці становлять не більше ніж 3–4 %. Перед забарвленням предметні скельця зі зрізами витримували протягом доби в термостаті за температури 45–50 °С задля якісного прикріплення зрізів до предметного скла. Забарвлення проводили гемотоксином і еозином, за стандартною методикою [179].

2.2.3. Біохімічні методи дослідження

Усі біохімічні дослідження проводились у 10% гомогенаті печінки щурів на спектрофотометрі Ulab 101.

Приготування 10 % гомогенату тканин печінки. Частину печінки, яка підлягала гомогенізації, зважували на терезах з точністю до 0,01 г. Після чого наважка тканини переносилася до фарфорової ступки об'ємом 250 мл. Тканина в чашці подрібнювалася ножицями з подальшим додаванням 50 мг стерильного кварцевого піска. Після чого, за допомогою товкачика розтирали тканину із піском до отримання гомогенної маси. Далі до цієї гомогенної маси додавали Трис-НСІ буферний розчин (0,1 М; рН=7,4) у розрахунку 1 г наважки тканини на 9 мл буферного розчину. Суміш ретельно перемішували та переносили у пробірки центрифуги. Центрифугування проводилося протягом 10 хв при 3000 об/хв. Надосадову речовину кількісно переносили у нові центрифужні пробірки для наступних біохімічних досліджень.

Визначення активності ізоформ NO-синтази. Для визначення загальної NO-синтазної активності (gNOS) до інкубаційного середовища, що містить 2,5

мл Трис-НСІ буферного розчину (0,1 М рН=7,4), 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН-відновленого та 0,3 мл 320 мМ розчину аргініну гідрохлориду додавали 0,2 мл 10% гомогенату тканин печінки. По тому, негайно відбирали 0,2 мл отриманої суміші для визначення концентрації нітритів (N1). Далі суміш протягом 30 хв витримували у термостаті при t=37 °С. По завершенню відбирали 0,2 мл для визначення концентрації нітритів (N2). Загальну NO-синтазну активність розраховували як:

$$gNOS=(N2-N1) *2057/B \text{ мкмоль/хв на грам білка,}$$

де B – концентрація білка г/л.

(Формула 2.1)

Для визначення рівня активності конститутивних ізоформ NO-синтази (сNOS) до інкубаційного середовища, що містить 2,3 мл Трис-НСІ буферного розчину (0,1 М рН=7,4), 0,2 мл 1% розчину аміногуанідину гідрохлориду, 0,3 мл 320 мМ розчину аргініну гідрохлориду та 0,1 мл 8 мМ розчину НАДФН-відновленого, додавали 0,2 мл 10% гомогенату тканин печінки. Наступним етапом - суміш інкубували протягом 60 хв у термостаті при t=37 °С. Після чого відбирали 0,2 мл для визначення концентрації нітритів (N3). Активність сNOS розраховували:

$$сNOS=(N3-N1) *1028,5/B \text{ мкмоль/хв на грам білка,}$$

де B – концентрація білка г/л.

(Формула 2.2)

Активність індукцйбельної ізоформи NO-синтази (іNOS) розраховували за формулою:

$$іNOS=gNOS-сNOS.$$

(Формула 2.3)

Концентрацію нітритів визначали на довжині хвилі 540 нм, використовуючи реактив Грісса в модифікації Ілосвая [180]. За допомогою біуретового реактиву визначали концентрацію білка та виражали в грамах на літр досліджуваної рідини.

Визначення активності аргіназ. Активність аргіназ визначали за збільшенням концентрації L-орнітину після інкубації 0,1 мл 10% гомогенату печінки в середовищі, що містить 0,5 мл фосфатного буферного розчину (0,1 М рН=7,0) та 0,3 мл 24мМ розчину L-аргініну протягом 20 годин при температурі t=37 °С. Активність аргіназ розраховували за формулою:

$$(O2-O1)*1000/(B*20)$$

де O1 – вміст L-орнітину до інкубації,

O2 – вміст L-орнітину після інкубації,

B – концентрація білка г/л [181].

(Формула 2.4)

2.2.4. Методика імуногістохімічного дослідження тканин печінки

Імуногістохімічні дослідження проводилися на базі кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету (завідувач кафедри проф. Москаленко Р. А.). Задля візуалізації окремих компонентів клітин нами був використаний імуногістохімічний метод із застосуванням специфічних антитіл. Із парафінових блоків, що були виготовлені за описаною вище методикою, отримували зрізи товщиною до 5 мкм, які наносили на високоадгезивні предметні скельця SuperFrost (Thermo Scientific. США). Висушування скелець зі змонтованими зрізами відбувалось у термостаті протягом 18 годин при температурі 37 °С, після чого проводилася депарафінізація і зневоднення у ксилолі та спиртах зростаючої концентрації. На водяній бані за температури 95-98 °С виконували демаскування рецепторів у середовищі цитратного буферу

(pH 6.0). Використовуючи систему детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer» (Thermo scientific. США) були візуалізовані первинні антитіла. Підсилення імуногістохімічної реакції здійснювали у вологій камері за допомогою «Primary Antibody Amplifier Quanto» (Thermo Scientific. США) у розведеннях рекомендованих виробником із використанням діамінобензидину (Thermo Scientific. США) у якості барвника. З метою блокування ендогенної пероксидази та фонового неспецифічного фарбування використовували «Hydrogen Peroxide Block» та «UltraVision Protein Block» (Thermo Scientific. США), відповідно. Після проходження імуногістохімічної реакції, для кращої візуалізації здійснювалось дофарбовування отриманих препаратів гематоксиліном Майєра.

Нами були використані первинні антитіла до CD163 (CD163 recombinant protein MBS2030437; Му Biosource, готові до використання), CD68 (Recombinant CD68 21BP10321B25; Abcam) та на анти-S100A9 антитіла; клон - [EPR22332-75] (ab242945). Для кожного зразка аналізували щонайменше десять різних полів зору (FOV) діаметром 1 мм. Результати ІГХ були представлені як середня кількість позитивних клітин на FOV.

2.2.5. Морфометрія препаратів тканин печінки білих щурів

Дослідження мікропрепаратів печінки білих щурів надавало можливість визначити ряд імунокомпетентних клітин печінки. Для проведення морфометричного аналізу печінки білих щурів, здійснювали визначення кількості макрофагів, лімфоцитів та зірчастих клітин (клітин Іто). Кількісний підрахунок клітин проводився щонайменше у 10 полях зору, шляхом візуального оцінювання, з використанням світлового мікроскопу Biorex 3 з цифровим мікрофільтром із програмним забезпеченням, пристосованим для цих досліджень (серійний номер 5605), об'єктив: 100×збільшення, окуляр: 10×збільшення. В результаті морфометричного дослідження встановлено

дійсну кількість імунокомпетентних клітин печінки на різних термінах експерименту в контрольній та експериментальних групах тварин.

2.2.6. Статистичне обробка результатів дослідження

Обробку отриманих результатів морфометричних параметрів було проведено за загальноприйнятими правилами варіаційної статистики [182].

Статистична обробка даних передбачала:

- обчислення описових статистик (медіана, середнє арифметичне, стандартне відхилення);
- перевірку нормальності розподілу даних (W-критерій Шапіро-Вілкса);
- однофакторний дисперсійний аналіз (One-way ANOVA) нормально розподілених даних з наступними апостеріорними попарними порівняннями за критерієм Бонферроні (Bonferroni post hoc test);
- обчислення (для даних, які не відповідають закону нормального розподілу) H-критерію Крускала-Воліса з наступними апостеріорними попарними порівняннями за U-критерієм Манна-Вітні (з критичним рівнем значущості $p = 0,017$).

Математико-статистична обробка даних здійснювалась за допомогою пакету статистичних програм SPSS 21.0 for Windows.

Застосовані методи дослідження дають можливість вивчити структуру та морфофункціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки, та динаміку змін показників у різні терміни проведення експерименту.

РОЗДІЛ 3
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ
В КОНТРОЛЬНІЙ ГРУПІ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ

3.1 Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів у контрольній групі тварин.

При дослідженні нами морфології структурної організації печінки контрольної групи тварин, а саме гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном і еозином нами було виявлено, що загальна структурна організація паренхіматозного органу була збережена і представлена паренхімою і стромальним компонентом (Рис. 3.1).

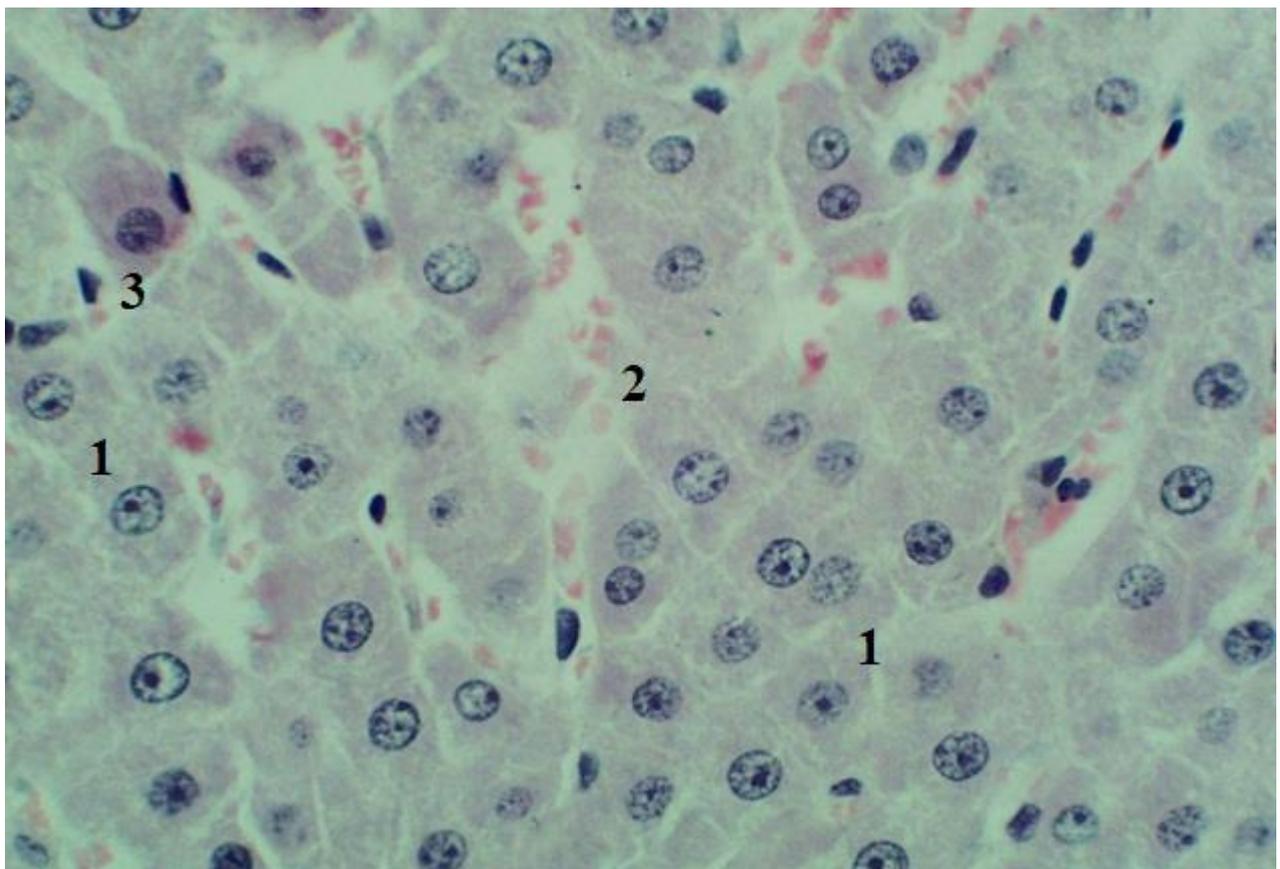


Рис. 3.1. Структурна організація печінки контрольної групи тварин. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – гепатоцити; 2 – синусоїди; 3 – клітини Іто.

Гепатоцити склали лише близько 70% загальної клітинної популяції органа. Непаренхімні клітини були представлені постійними антигенпрезентуючими клітинами, що включають резидентні макрофаги (клітини Купфера), синусоїдальні ендотеліальні клітини, печінкові зірчасті клітини або клітини Іто і дендритні клітини, а також внутрішньопечінковими лімфоцитами та клітинами біліарної системи (Рис. 3.1).

Синусоїдні капіляри печінки були оточені простором Діссе, в якому знаходилась особлива популяція судинних перицитів, які називаються печінковими зірчастими клітинами, або клітинами Іто. Звичайно вони розміщуються у субендотеліальному просторі Діссе, між базолатеральною поверхнею гепатоцитів та антилюмінальною стороною синусоїдальних ендотеліальних клітин (Рис.3.1).

Клітини Іто мають різні типи цитоплазматичних відростків, деякі розміщуються між гепатоцитами, а інші – мають субендотеліальне розташування. Кількість клітин становила - $25,59 \pm 1,21$ в полі зору (Табл.3.1).

Таблиця 3.1

Кількісна характеристика імунокомпетентних клітин печінки при введенні триптореліну. ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні *400

	Клітини Іто	Лімфоцити	Макрофаги
Контрольна	$25,59 \pm 1,21$	$11,38 \pm 1,01$	$9,45 \pm 1,12$
30 діб	$33,28 \pm 1,20^{**}$	$8,56 \pm 1,74$	$48,04 \pm 2,12^{**}$
90 діб	$19,1 \pm 1,03^{**}$	$4,68 \pm 0,89^{**}$	$65,5 \pm 4,4^{**}$
180 діб	$21,48 \pm 1,44^*$	$6,76 \pm 0,88^{**}$	$66,06 \pm 2,94^{**}$
270 діб	$20,04 \pm 1,13^{**}$	$11,16 \pm 0,99$	$64,84 \pm 1,45^{**}$
365 діб	$21,16 \pm 1,34^*$	$11 \pm 1,16$	$68,04 \pm 2,28^{**}$

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження

Всі клітини мали зіркоподібну форму, а їх цитоплазматичні відростки оточували сусідні ендотеліальні клітини (Рис. 3.1). Власне тіло клітин мало невеликі розміри, веретеноподібне, містило овальне або видовжене об'ємне ядро, часто стиснуте ліпідними вакуолями.

Лімфоцити печінки щурів здебільшого визначалися в судинах портального тракту, але водночас визначалися дифузно по всій паренхімі. Вони відрізнялися за розміром та формою ядра, яке зазвичай було кругле або злегка овальне, часто з ущільненим хроматином (Рис. 3.2). Їх кількість становила $11,38 \pm 1,01$ в полі зору. Цитоплазма здебільшого мала вигляд тонкого обідка навколо ядра.

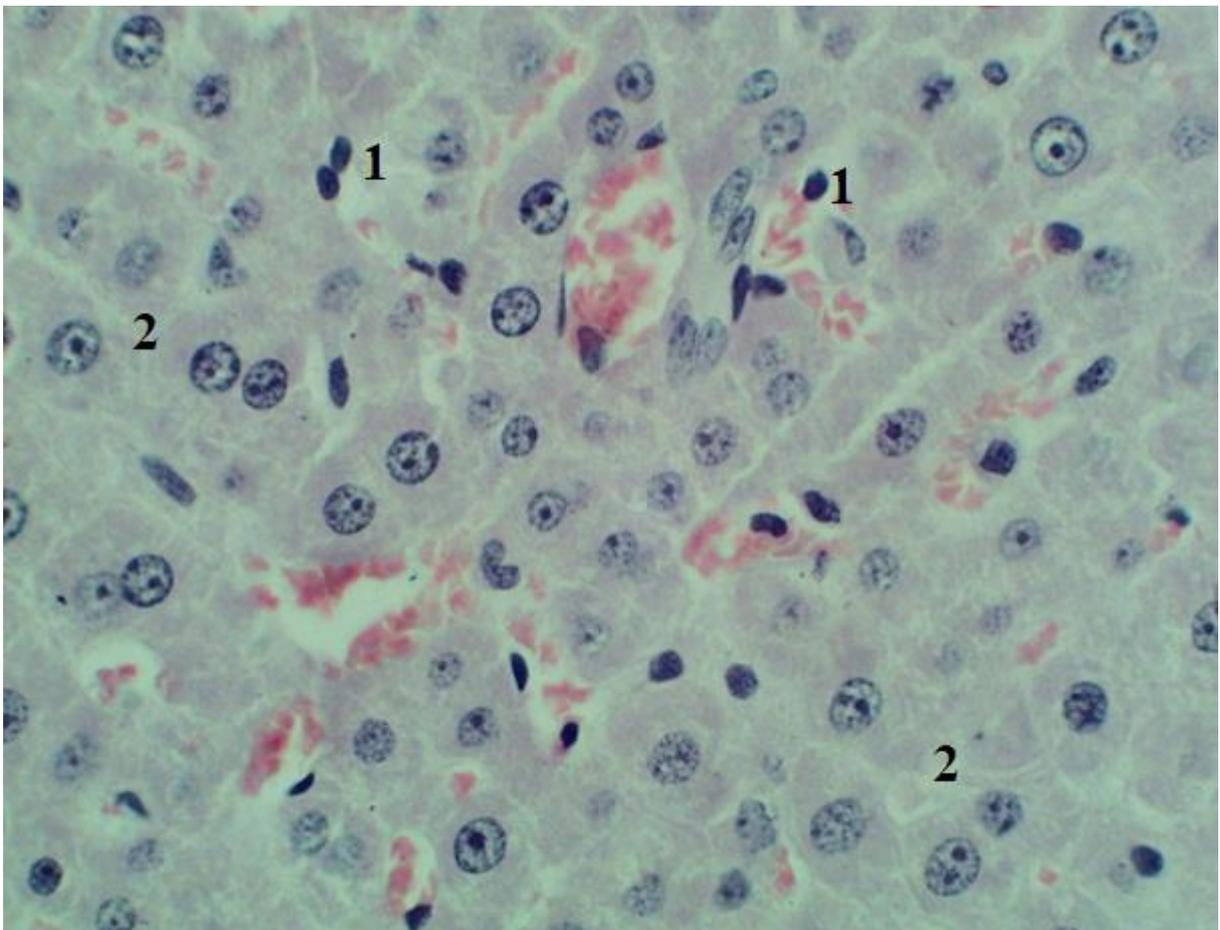


Рис. 3.2. Структурна організація печінки контрольної групи тварин. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – лімфоцити; 2 – гепатоцити;

При забарвленні гематоксиліном і еозином була дещо світліша від насичено базofilного забарвлення ядра. Лімфоцити більшого розміру мали більший об'єм світлішої за забарвленням цитоплазми та менш конденсований хроматин.

Клітини Купфера (КК) визначалися, переважно, в просвіті синусоїдів як у централобулярних, так і в перипортальних ділянках печінкових часточок (Рис. 3.3). Ядра неправильної форми, були переважно розташовані в центрі клітини, але зустрічалось і периферичне розташування ядра. Нуклеолема чітка, добре контурована, в каріоплазмі переважав еухроматин, візуалізовувалося невелике ядрце.

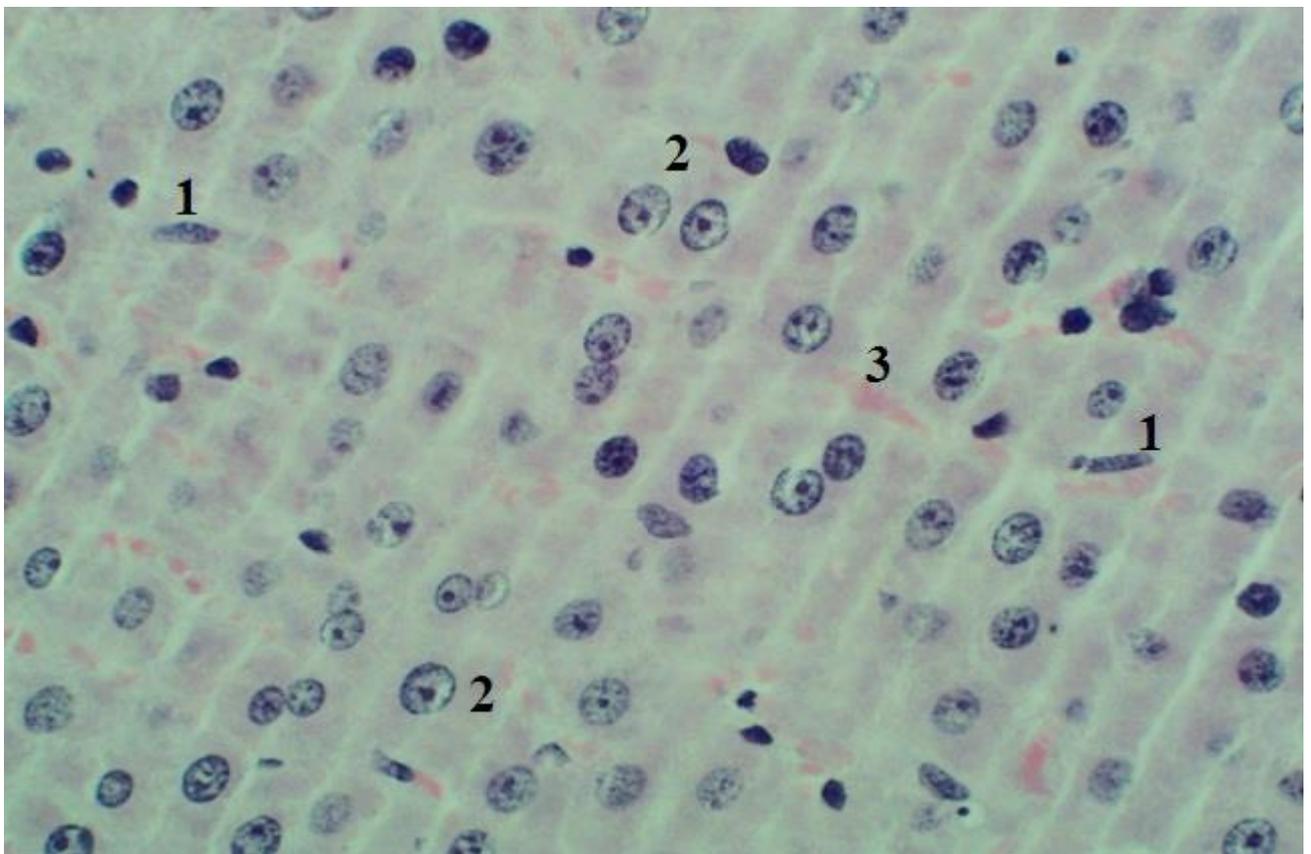


Рис. 3.3. Структурна організація печінки контрольної групи тварин. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – клітини Купфера; 2 – гепатоцити; 3 – синусоїдний капіляр.

3.2 Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 30-й день експерименту

У II групі досліджуваних тварин на 30-й день експерименту структура печінки була збережена, візуально визначалося збільшення товщини сполучнотканинних елементів.

При кількісному дослідженні клітинної популяції негепатоцитарного ряду, а саме клітин Іто, лімфоцитів та макрофагів визначалася певна тенденція. Клітин Іто виявлялось $33,28 \pm 1,209$ в полі зору, що на 30% більше, в порівнянні з контрольною групою при $p < 0,01$.

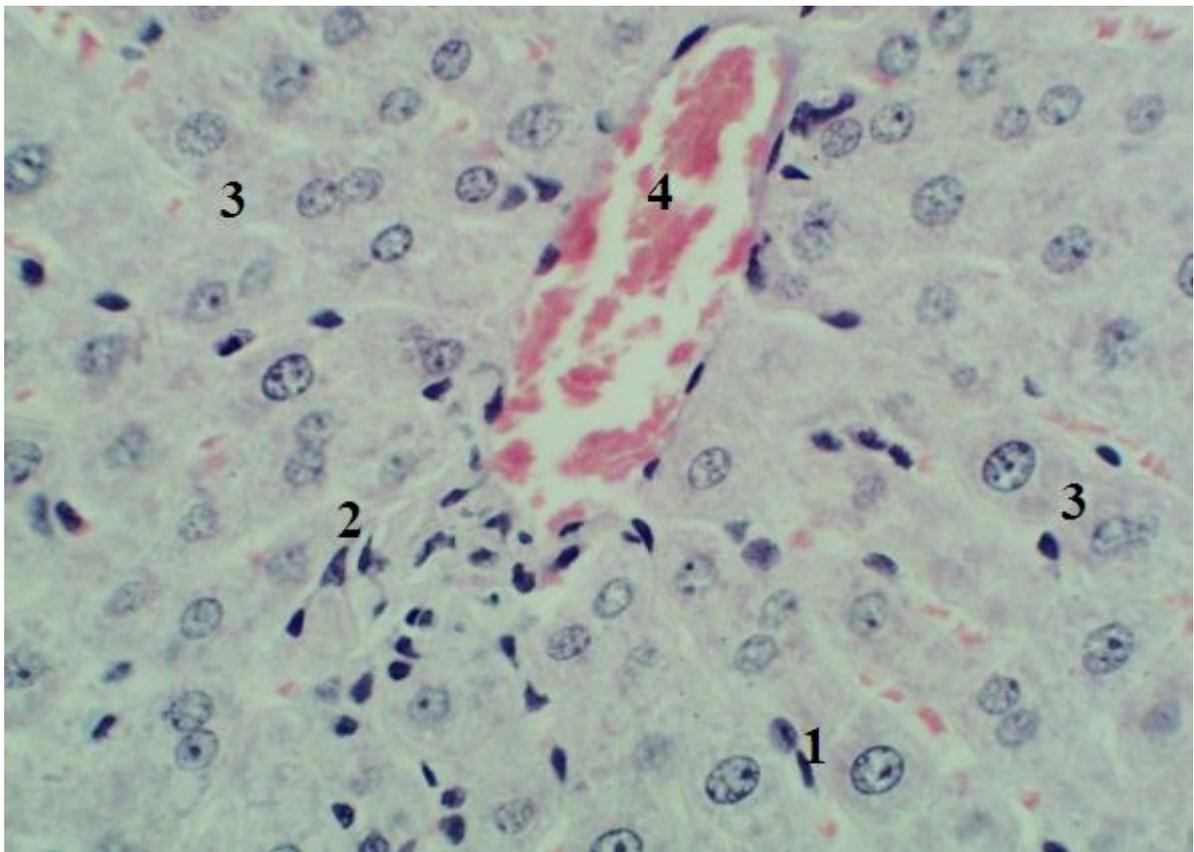


Рис. 3.4. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 30-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – клітини Купфера; 2 – клітина Іто; 3 – гепатоцити; 4 – центральна вена.

Морфологічно та морфометрично ці клітини не відрізнялись від клітин контролю. Клітини мали зірчасту або видовжену форму з численними відростками. Ядро було невелике, зазвичай видовжене або овальне. Цитоплазма з невеликою кількістю великих ліпідних крапель, які при забарвленні гематоксилін еозином визначались як пустоти (Рис. 3.4).

Лімфоцити виявлялись тільки в судинах портального тракту, в паренхімі - поодинокі, невеликі за розміром клітини без чітко видимої цитоплазми (Рис. 3.4). Кількість клітин зменшилась на $\frac{1}{4}$, у порівнянні з контрольною групою тварин і становила $- 8,56 \pm 1,74$ в полі зору.

Визначалися КК, кількість яких була дещо підвищена, порівняно з контролем, клітини прилягали до ендотелію синусоїдів, деякі меншою частиною цитоплазми знаходилися в перисинусоїдальному просторі і контактували з гепатоцитами (Рис. 3.5).

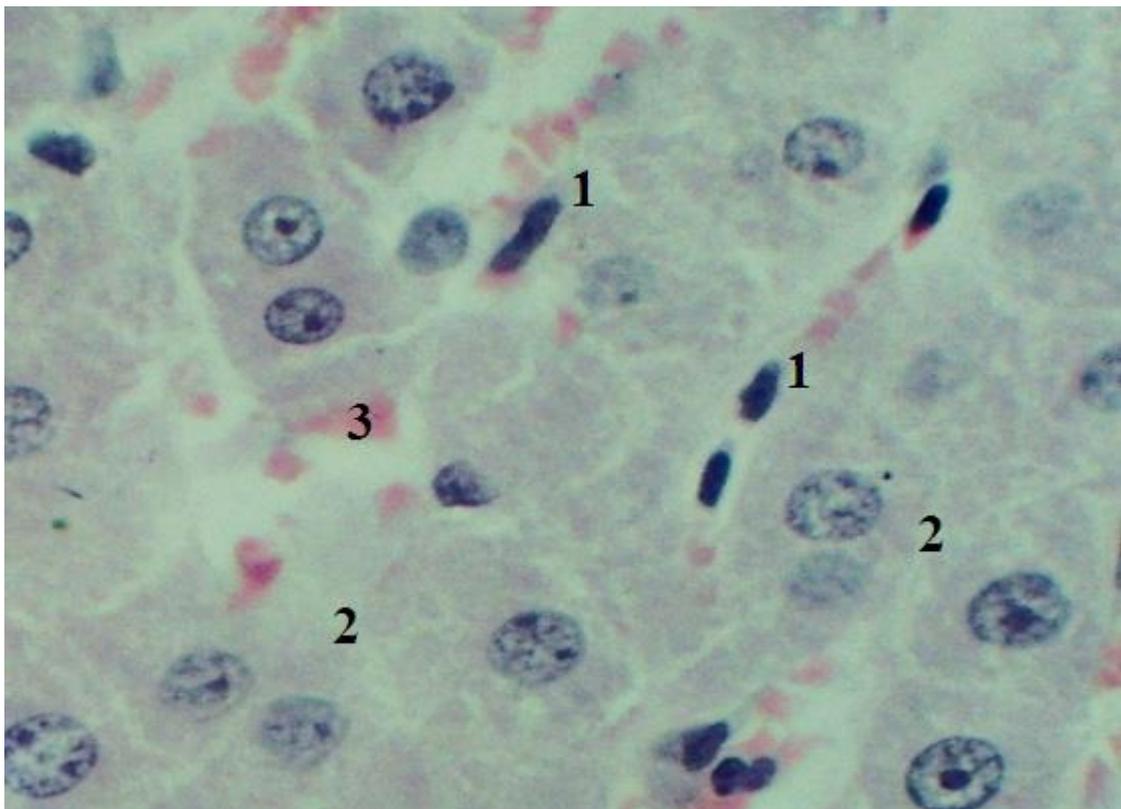


Рис. 3.5. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 30-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40. 1 – клітини Купфера; 2 – гепатоцити; 3 – синусоїди.

Їх плазмолема була нерівномірною, у вигляді псевдоподій з численними мікрворсинками, які виступали в просвіт синусоїдів. Ядра неправильної форми, переважно розташовані в центрі клітини. Каріолема щільна, чітка, контурована, в каріоплазмі переважав еухроматин, візуалізувалося невелике ядрце, яке прилягало до каріолеми.

Цитоплазма світла, з невеликою кількістю первинних і вторинних лізосом. Синтетичний та метаболічний апарати клітини без візуальних змін (Рис.3.5).

Кількість клітин в полі зору становила - $48,04 \pm 2,12$, що на 408% більше, в порівнянні з контрольною групою тварин при $p < 0,01$.

3.3 Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 90-й день експерименту

90-та доба спостереження характеризувалась незначним збільшенням товщини прошарків сполучної тканини мікропрепаратів печінки. Клітинний склад гепатоцитів був стабільний. Структура однорідна.

При проведенні нами морфометричного підрахунку клітинної популяції клітин печінки встановлено наступне: чисельність клітин Іто у полі зору становила $19,1 \pm 1,03$, порівняно з попереднім терміном дослідження (30-та доба), при $p < 0,01$ ця кількість клітин збільшилась, але в порівнянні з контрольною групою була менше на 16%.

Візуально ці клітини не мали суттєвих відмінностей від аналогічних структур у контрольній групі. Це клітини, які мали, здебільшого, зірчасту або видовжену форму з характерними цитоплазматичними відростками, які занурювались між гепатоцитами. Ядра клітин Іто були переважно невеликими, щільними, овальної форми (Рис. 3.6).

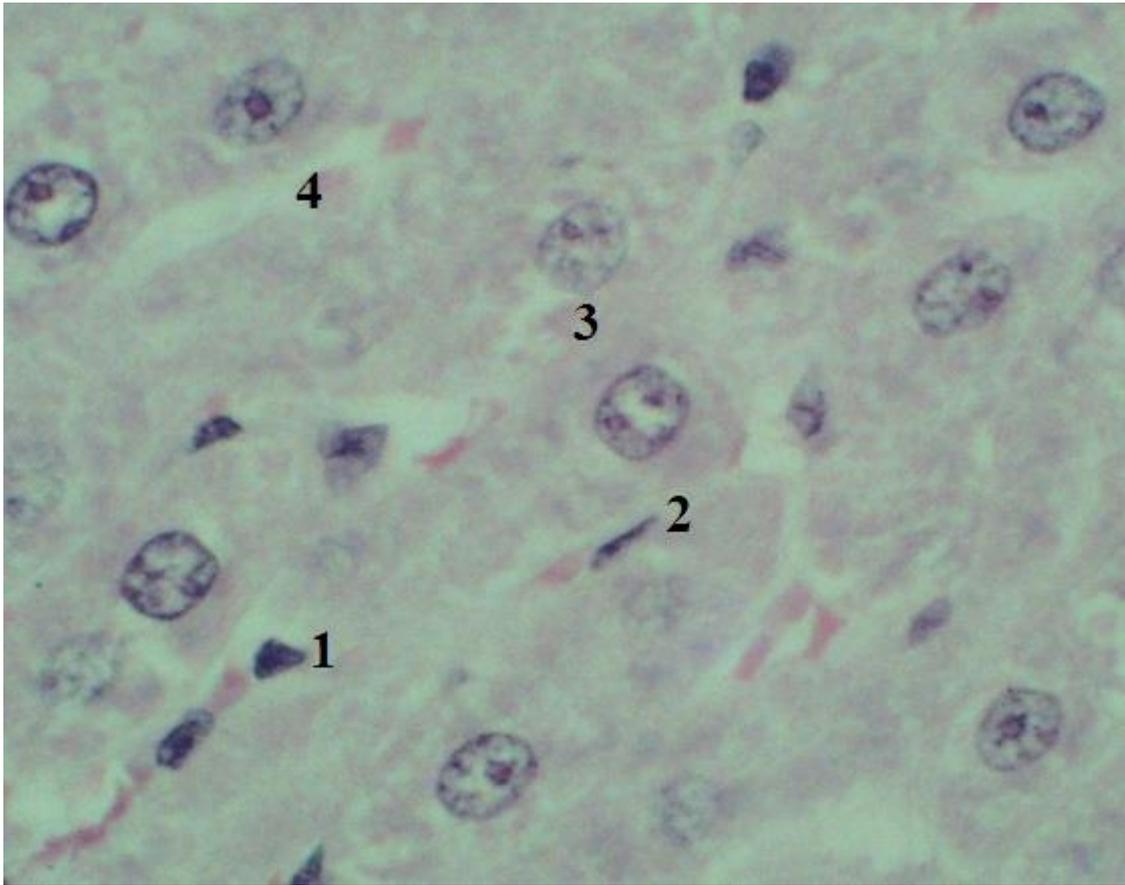


Рис. 3.6. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 90-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40. 1 – клітина Іто; 2 – клітина Купфера; 3 – гепатоцит; 4 – синусоїд.

При дослідженні нами клітин лімфоцитарного ряду встановлено, що більшу частину клітин в популяції становили малі лімфоцити. Середні та великі були поодинокі і вони виявлялися в структурі жовчних проток або, подекуди, в паренхімі печінки. Малі клітини визначалися, переважно, в синусоїдних капілярах, тоді як у паренхімі зустрічалися лише поодинокі представники.

Лімфоцити мали гіперхромне ядро з вузьким обідком цитоплазми. Зафіксовано тенденцію до різкого зниження - $4,68 \pm 0,89$ в полі зору, що на 59% нижче ніж у контрольній групі.

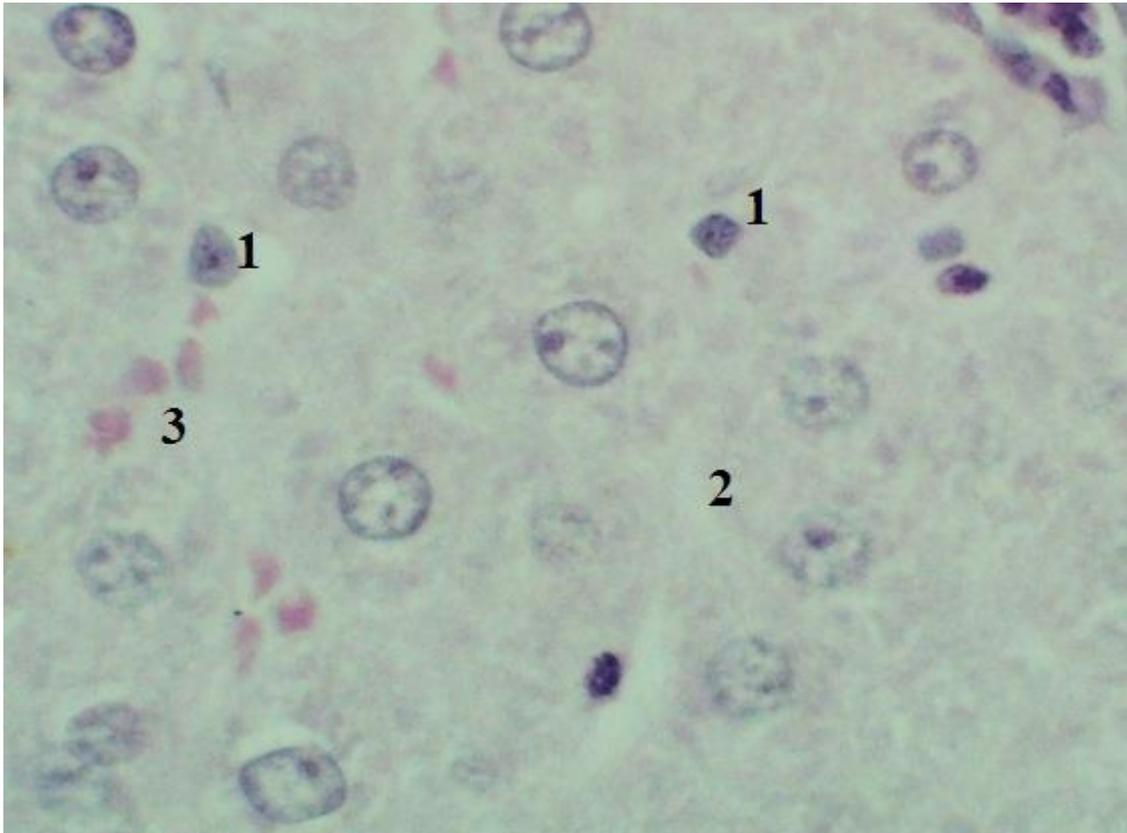


Рис. 3.7. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 90-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40. 1 – клітини Купфера; 2 – двуюдерний гепатоцит; 3 - синусоїд.

Спостерігалось суттєве зростання кількості макрофагів печінки, порівняно з контролем. Кількість клітин становила – $65,5 \pm 4,4$ в полі зору, що статистично достовірно не відрізнялась від попередніх показників, але в порівнянні з контролем збільшилася в 7 разів.

Клітини Купфера щільно прилягали до ендотеліальної вистилки синусоїдних капілярів. Окремі макрофаги локалізувалися в перисинусоїдальному просторі, вступаючи в безпосередній контакт із базальною поверхнею гепатоцитів (Рис. 3.7).

3.4 Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 180-й день експерименту

При дослідженні нами напівтонких зрізів печінки на 180-й день експерименту у експериментальній групі I структура печінки збережена, товщина сполучнотканинних елементів дещо збільшена, в порівнянні з контрольною групою, статистична достовірність не підтверджена.

Діаметр вен печінкових триад збільшено, порівняно з контрольною групою тварин на 10%. Просвіт жовчних протоків еліпсоподібний, визначаються ознаки стазу жовчі.

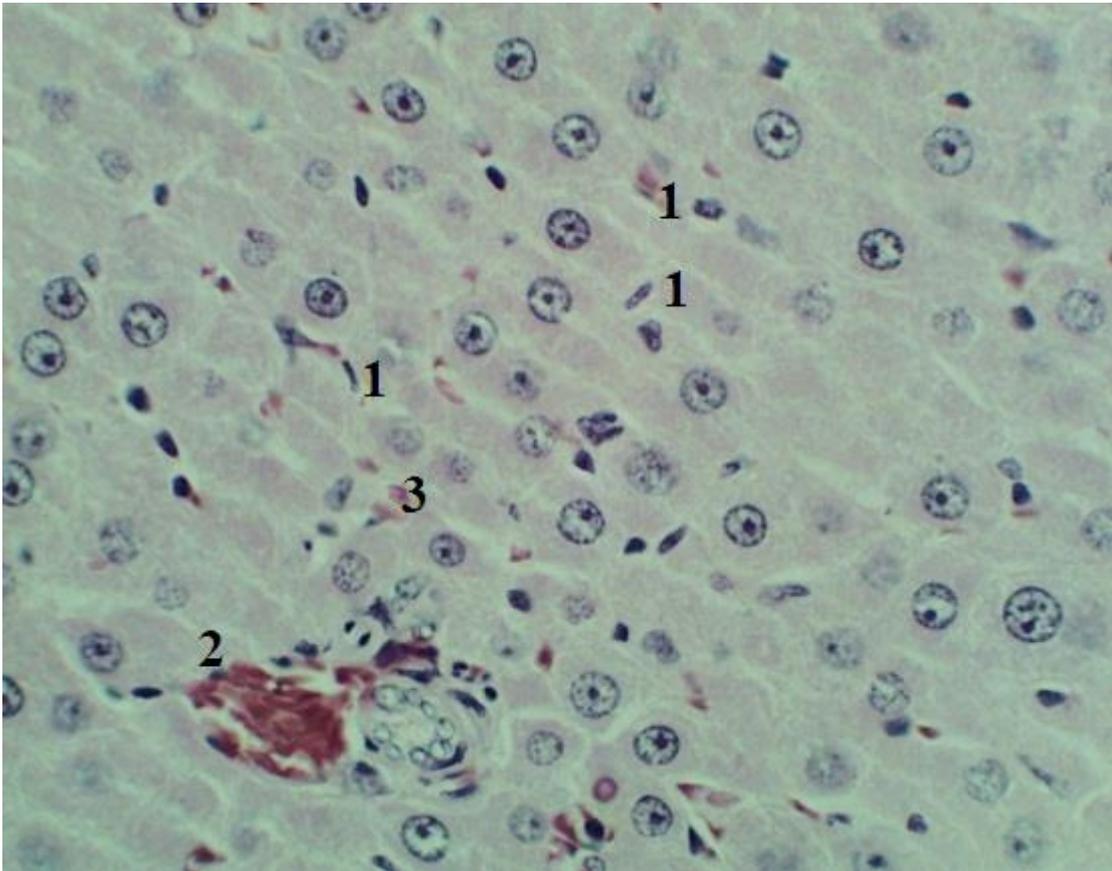


Рис. 3.8. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 180-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – клітини Купфера; 2 – вена; 3 – синусоїд.

Центральні вени трохи розширені, повнокровні, у просвіті визначалися еритроцити та значна кількість лейкоцитів (Рис. 3.8). Синусоїдні капіляри розширені. В полі зору визначалися КК – $66,06 \pm 2,94$, у порівнянні з групою контролю їх кількість збільшена як у просвіті синусоїдних капілярів, так і у просторі Діссе (Рис. 3.8).

Клітини Іто знаходилися у перисинусоїдальному просторі власне між стінкою синусоїдного капіляра та мембраною гепатоцита. Вони ніби «обіймають» капіляр своїми довгими відростками. Кількість в полі зору становила $21,48 \pm 1,44$ що в порівнянні з контрольною групою тварин менше на 16%, при $p < 0,05$. Головна особливість — це наявність великих ліпідних крапель, але на цьому етапі експерименту вміст гранул цих клітин незмінений.

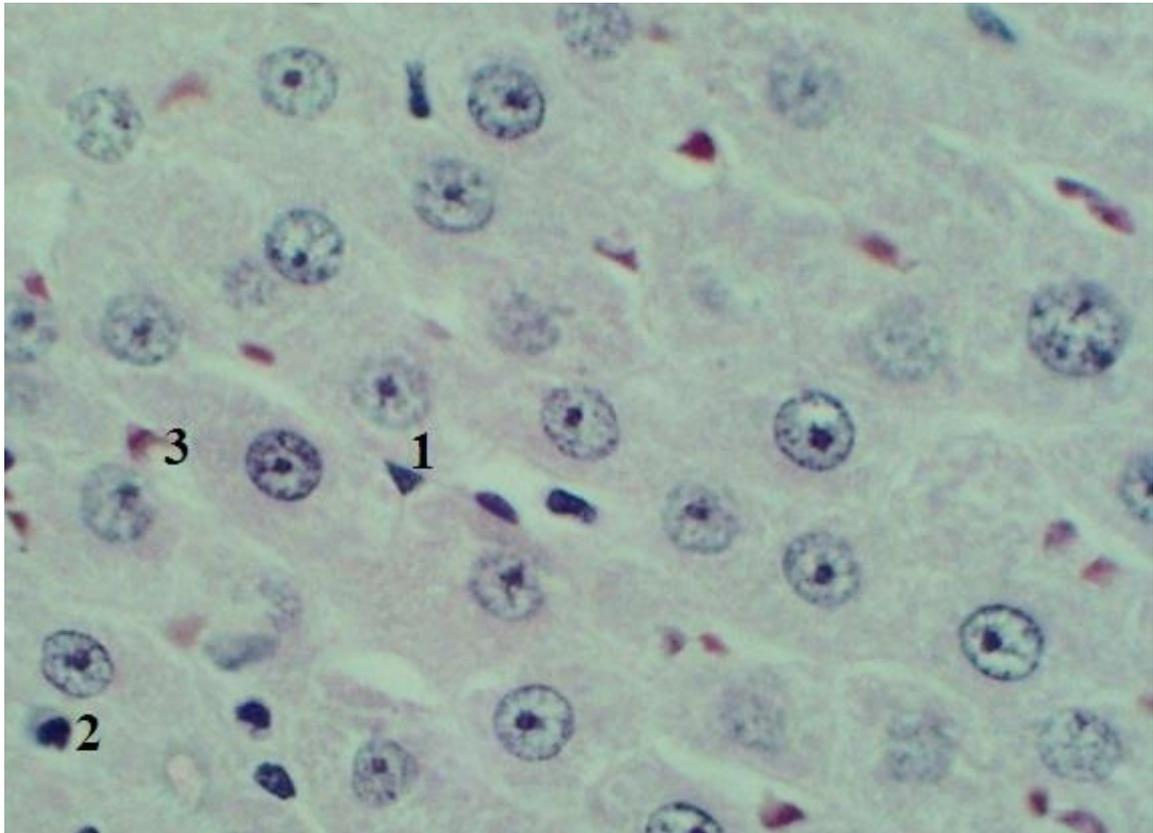


Рис. 3.9. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 180-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40. 1 – клітина Іто; 2 – лімфоцит; 3 – синусоїд.

Щодо лімфоцитів на цьому етапі експерименту – їх кількість зменшена в 2,5 рази, в порівнянні з контролем і становила $6,76 \pm 0,88$ в полі зору. Клітини здебільшого знаходились в стінках жовчних проток, і поодинокі в просвіті синусоїдних капілярів.

3.5 Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 270-й день експерименту

На 270-ту добу експериментального дослідження в напівтонких зрізах печінки тварин I дослідної групи нами виявлено, що структура печінки збережена, товщина сполучнотканинних перемичок візуально збільшена, за рахунок судинного компонента. (Рис. 3.10).

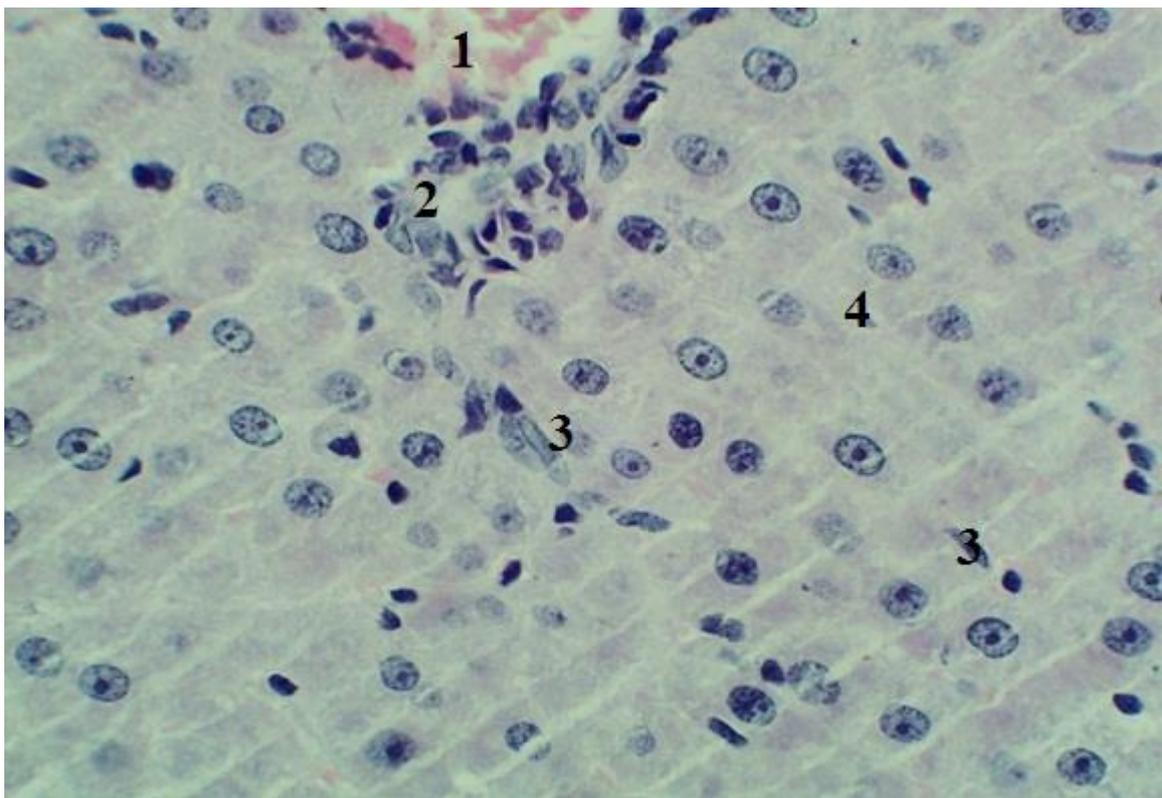


Рис. 3.10. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 270 день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – вена; 2 – жовчна протока; 3 – клітини Купфера; 4 - гепатоцит

У судинах печінкових триад ми не виявили статистично значущих змін, порівняно з контрольною групою тварин. Жовчні протоки дещо розширені. Центральні вени повнокровні, подекуди виявляється еритроцитарний складж, порівняно з контрольною групою тварин (Рис. 3.10). Кількість імунокомпетентних клітин печінки, а саме КК, збільшена в 2,1 рази, порівняно з контрольною групою, їх візуальний огляд виявляє незначні зміни в ультраструктурі (Рис. 3.11).

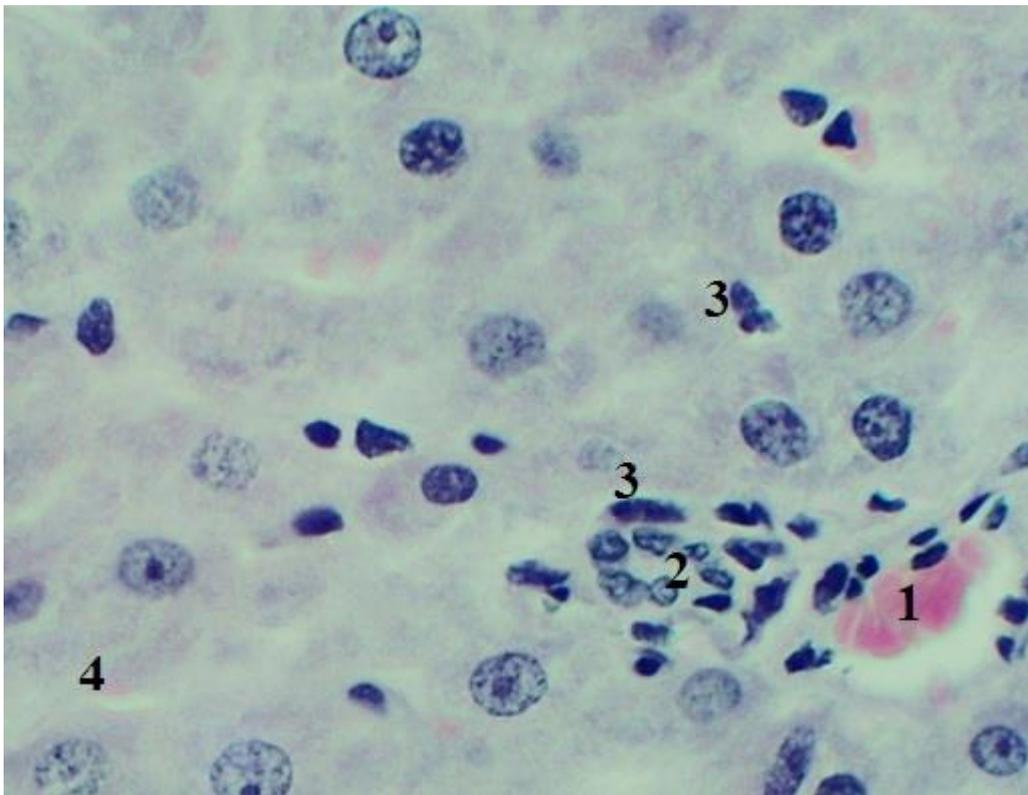


Рис. 3.11. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 270-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40. 1 – вена; 2 – жовчна протока; 3 – клітини Купфера; 4 – гепатоцит

На цьому етапі експерименту нами визначена така кількість імунокомпетентних клітин печінки у тварин експериментальної групи І: клітини Іто – $20,04 \pm 1,13$; лімфоцити – $11,16 \pm 0,99$; клітини Купфера – $64,84 \pm 1,45$ в полі зору (Табл.3.1).

Так, за умов центральної депривації синтезу тестостерону, на 270-ту добу експерименту нами виявлено, що КК прилягали до ендотелію синусоїдів, деякі з них перебували в перисинусоїдальному просторі і контактували з гепатоцитами.

Ядра більшості клітин неправильної форми, здебільшого розташовані в центрі клітини. Цитоплазма світла, синтетичний та метаболічний апарат клітини був без візуальних змін.

Плазмолема клітин Іто була нерівномірною, у вигляді псевдоподій, що виступали в просвіт синусоїдів. Ядра більшості клітин були неправильної форми і переважно розташовувалися в центрі клітини. Каріолема щільна, прозора, контурна, в каріоплазмі переважав еухроматин, визначалося невелике ядрце, прилегле до каріолеми.

Цитоплазма світла, синтетичний та метаболічний апарати клітини були без візуальних змін.

3.6. Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну на 365-й день експерименту

На 365-ту добу експерименту при дослідженні напівтонких зрізів печінки тварин дослідної групи встановлено, що структура печінки збережена, товщина сполучнотканинних перемичок візуально залишається збільшеною, за рахунок судинного компонента. Кількість імунокомпетентних клітин печінки, а саме КК, порівняно з контрольною групою, збільшується в 2,3 рази від загальної кількості клітин

Жовчні протоки розширені. Центральні вени повнокровні, місцями виявляється складж еритроцитів. Синусоїдні капіляри візуально розширені, порівняно з контрольною групою тварин (Рис. 3.12).

Клітин Іто – $21,16 \pm 1,34$; лімфоцитів – $11 \pm 1,16$; клітин Купфера – $68,04 \pm 2,28$ в полі зору (Табл.3.1).

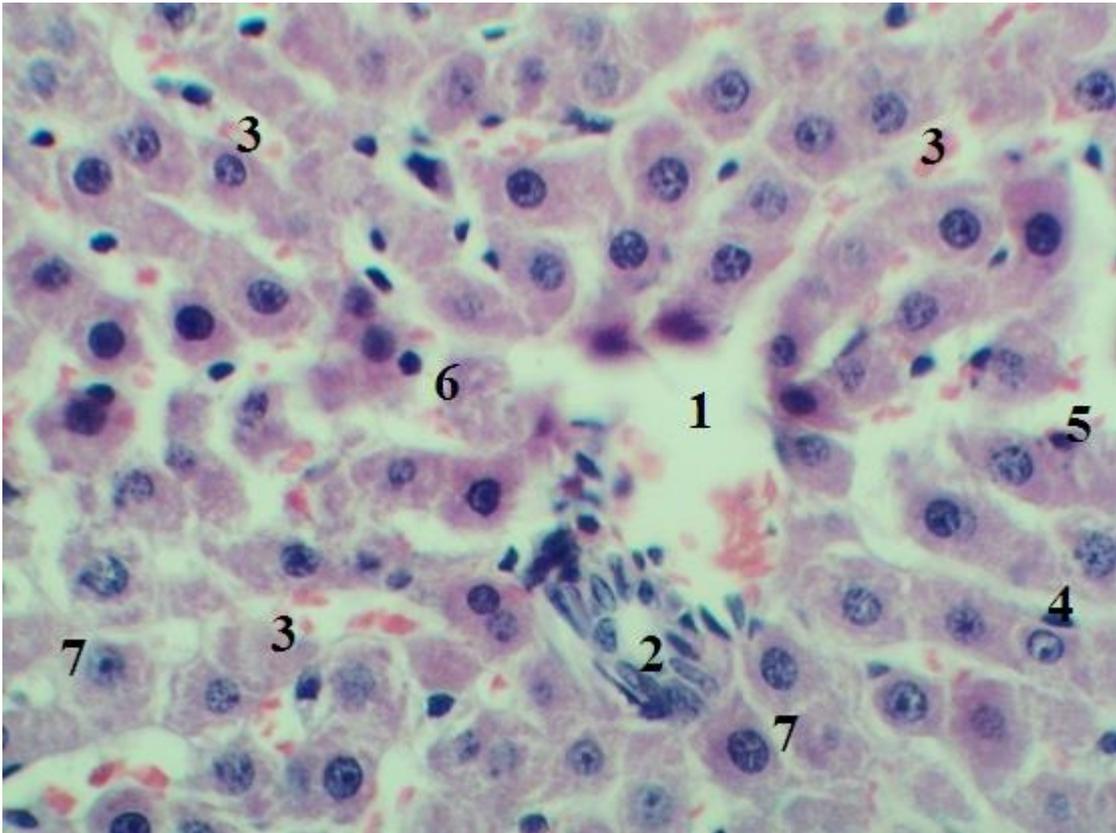


Рис. 3.12. Структурна організація печінки експериментальної групи тварин при введенні триптореліну на 365-й день експерименту. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40. 1 – вена; 2 – жовчна протока; 3 – синусоїди; 4 – клітина Купфера; 5 – клітина Іто; 6 – лімфоцит; 7 – гепатоцити.

3.7. Резюме

Проведене комплексне дослідження дозволяє встановити, що тривале застосування триптореліну зумовлює стадійну перебудову клітинного складу непаренхімного апарату печінки, яка характеризується вираженою активацією макрофагальної ланки на тлі фазних коливань чисельності клітин Іто та лімфоцитів.

Макрофагальна реакція, як домінуючий процес. Найбільш стабільним та статистично значущим (при $p < 0,01$) наслідком введення препарату є стрімке та прогресуюче зростання кількості клітин Купфера. Вже на 30-ту добу їх чисельність зростає на 408%, сягаючи максимуму до 365-ї доби (зростання у 7,2 раза порівняно з контролем). Така активація КК вказує на розвиток хронічного

імунного запалення та активацію системи мононуклеарних фагоцитів у відповідь на центральну депривацію синтезу тестостерону.

Двофазна динаміка клітин Іто. Реакція печінкових зірчастих клітин має компенсаторно-адаптивний характер:

Фаза активації (30-та доба): спостерігається вірогідне зростання їх кількості на 30% (при $p < 0,01$);

Фаза стабільного зниження (90–365-а доби): чисельність клітин Іто стабілізується на рівні, що на 16–25% нижче за контроль. Одночасне зменшення вмісту ліпідних гранул, що візуально оцінювалося по зменшенню «пінистості» цитоплазми (особливо помітне на 180-ту добу) свідчить про їх часткову активацію та трансформацію в міофібробластоподібні клітини, що є ключовою ланкою в ініціації фіброгенезу.

Супресія та відновлення лімфоцитарної ланки. Динаміка лімфоцитів демонструє виражену депресію в середньостроковому періоді: найглибший спад фіксується на 90-ту добу (зниження на 59%, при $p < 0,01$), що може бути наслідком системного гормонального дисбалансу. До 270–365-ї доби спостерігалася повна нормалізація чисельності лімфоцитів до показників контрольної групи, що вказує на адаптацію імунної системи до умов тривалого введення препарату.

Таким чином, тривала центральна депривація синтезу тестостерону, під впливом триптореліну, призводить до формування хронічного імунозапального стану печінки з домінуванням макрофагальної інфільтрації. Виявлені зміни (активація клітин Іто та макрофагів на тлі мікроциркуляторних порушень) створюють морфологічне підґрунтя для потенційного розвитку фібротичних змін органа при подальшій відсутності корекції.

Публікації по темі дисертації

Статті в журналах:

1. Рудь М.В. Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. (2021) *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 21(2), 203–207 (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті) [184].
2. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Vilkhova O. V., Skotarenko T. A. The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *World of Medicine and Biology*, 2021, №2(76), 238-42. (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті) [185].
3. Rud, M., Shepitko, V., Stetsuk, Y., & Akimov, O. (2022). The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*, 26(1-2), 22-25. <https://doi.org/10.31718/mep.2022.26.1-2.06> (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті). [186].
4. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O.Ye. Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment. *Bulletin of problems biology and medicine*, 2022, Issue 2 Part 2, 165, 151-5. (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті) [187].
5. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Sydorenko A. G., Voloshyna O. V., Starchenko I. I., Nalyvaiko A. O. Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day. *World of Medicine and*

Biology, 2023, №2 (84), 229-33. *(Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті [188].*

Тези доповідей:

1. Рудь МВ, Шепітько ВІ. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р.; Полтава, 2021; с. 80–1. *(Здобувачці належать результати дослідження процесів продукування оксиду азоту при тривалій центральній депривації синтезу тестостерону, викликаній триптореліном в антигенпрезентуючих клітинах печінки) [190].*

2. Рудь МВ, Вільхова ОВ, Скотаренко ТА. Морфо-функціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки на фоні пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; м. Полтава, 8 жовтня 2021р.; Полтава, 2021; с. 145-7. *(Здобувачці належать результати досліджень реакції імунокомпетентних клітин печінки, за умов блокування синтезу тестостерону центрального генезу) [191].*

3. Rud M, Stetsuk Y. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання); м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р; Полтава, 2023; с.

107–8. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [194].

4. Rud MV, Stetsuk YeV. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population. Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського; м. Київ, 8–9 червня 2023; Київ, 2023; с. 101–2. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [195].

5. Rud MV, Stetsuk YeV. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population. Теорія та практика сучасної морфології» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р; Дніпро, 2023; с. 94–5. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [196].

РОЗДІЛ 4
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПРИ ВВЕДЕННІ
ТРИПТОРЕЛІНУ І ЙОГО КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ.

4.1. Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 30-й день експерименту

На 30-ту добу експерименту, при застосуванні кверцетину на тлі центральної депривації синтезу тестостерону, при гістологічному дослідженні структура печінкових часточок була збережена, центральні вени дещо розширені, порівняно з контрольною групою тварин, але морфометричні показники не були статистично достовірними. Синусоїди мали чіткий контур, в просвіті визначалися еритроцити та макрофаги, подекуди поодинокі лімфоцити (Рис. 4.1.).

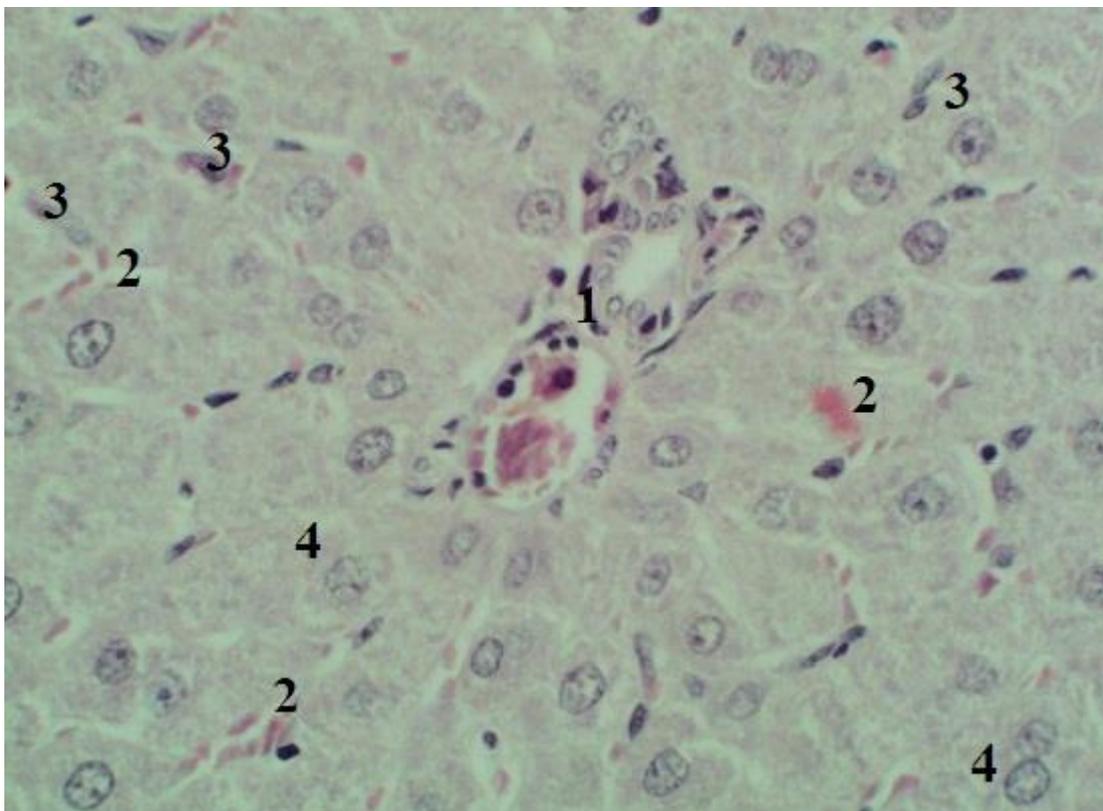


Рис. 4.1. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 30-у добу експерименту. 1 – печінкова триада;

2 – синусоїди; 3 – клітини Купфера; 4 – гепатоцити. Напівтонкий зріз.
Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Клітини Іто, макрофаги та лімфоцити, що визначалися, були звичайних розмірів, але загальна кількість клітин збільшилась (Табл.4.1).

Табл. 4.1.

Кількісна характеристика імунокомпетентних клітин печінки при введенні триптореліну з додаванням кверцетину. ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні *400.

Групи	Клітини Іто	Лімфоцити	Макрофаги
контрольна	25,59±1,22	11,38±1,01	9,45±1,12
30-та доба	31,32±1,72*	14,14±0,89**	37,24±2,75**
90-та доба	25,06±1,11	11,32±0,85	55±4,52**
180-та доба	25,38±0,90	11,72±1,02	45,04±3,48**
270-та доба	33±0,96**	14,56±1,03*	42,84±4,15**
365-та доба	25,68±0,88	16,16±1,13**	51,92±5,16**

Примітки: * – $p < 0,05$ та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження

За показниками морфометричного дослідження клітинної популяції імунокомпетентних клітин печінки (Табл.4.1) на 30-ту добу можна зробити висновок про маніфестацію імунної відповіді.

Найбільш динамічною була реакція макрофагальної ланки, чисельність клітин якої зросла майже вчетверо, порівняно з контролем (9,45±1,126), і становила 37,24±2,7504 клітин у полі зору.

Виявлялось також одночасне достовірне збільшення кількості клітин Іто на 22,4 % при $p < 0,05$ та лімфоцитів при $p < 0,01$ у порівнянні з контролем, що

свідчить про розгортання комплексної захисної реакції у відповідь на введення триптореліну (Рис.4.2).

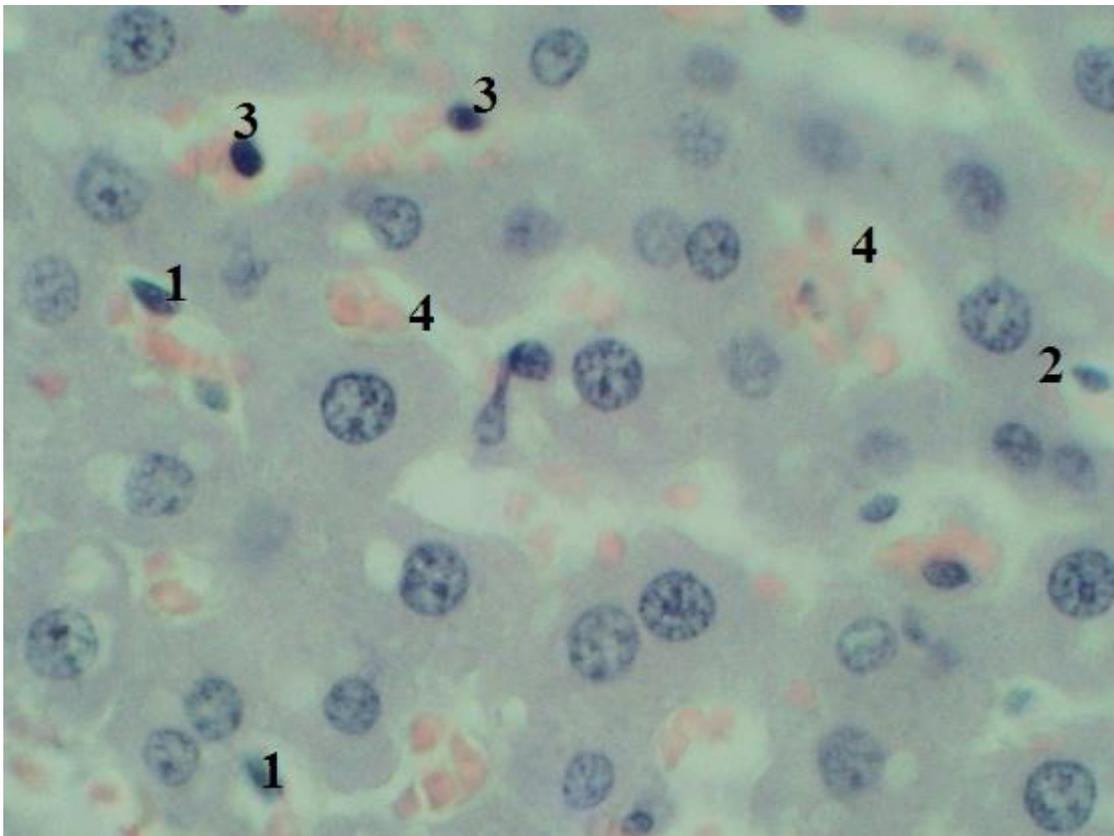


Рис. 4.2. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 30-й день експерименту. 1 – КК; 2 – клітина Іто; 3 – лімфоцити; 4 – розширені синусоїдні капіляри. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40.

4.2. Характеристика імунокомпетентних клітин печінки шурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 90-й день експерименту

90-та доба спостереження характеризувалась абсолютним піком в кількості макрофагів, +482% від показників контрольної групи (Табл.4.1), що вказує на фазу максимального напруження захисних механізмів печінки на введення триптореліну при одночасному додаванні кверцетину.

Спостерігається регрес кількості клітин Іто та лімфоцитів до рівня контролю. При цьому показники клітин Іто та лімфоцитів тимчасово повертаються до значень, близьких до контрольних (Табл. 4.1). Це може свідчити про адаптацію організму або протективний ефект кверцетину, який нівелює початкове подразнення

При гістологічному дослідженні напівтонких зрізів печінки щурів з експериментальної групи на 90-й день експерименту, структура печінки була збережена, візуально відмічалось розширення трабекул, за рахунок набряку (Рис.4.3).

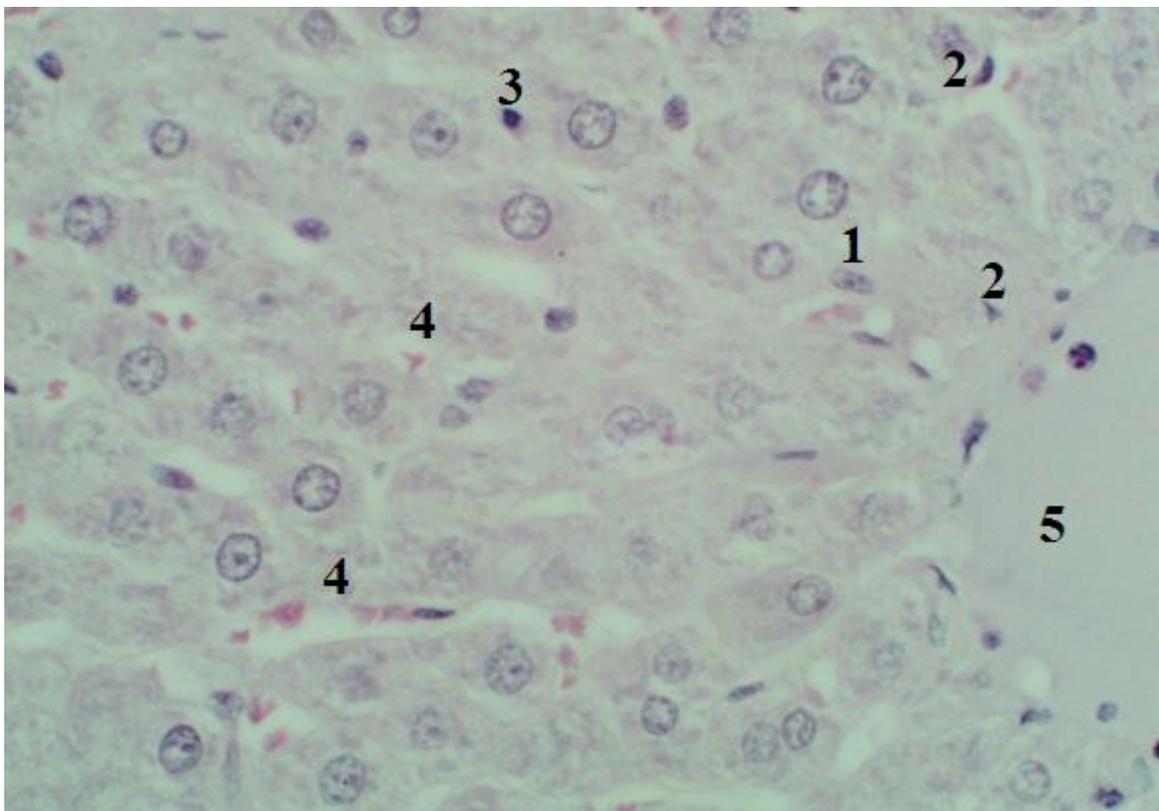


Рис. 4.3. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 90-й день експерименту. 1 – КК; 2 – клітини Іто; 3 – лімфоцит; 4 – синусоїдні капіляри; 5– центральна вена. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Діаметр центральних вен візуально незначно збільшений, порівняно з контрольною групою тварин. Еритроцити у просвіті центральної вени були відсутні. Синусоїди мали чіткий контур, у просвіті визначалися еритроцити та макрофаги. Визначалося накопичення рідини у сполучній тканині паравезикулярного простору (Рис.4.4).

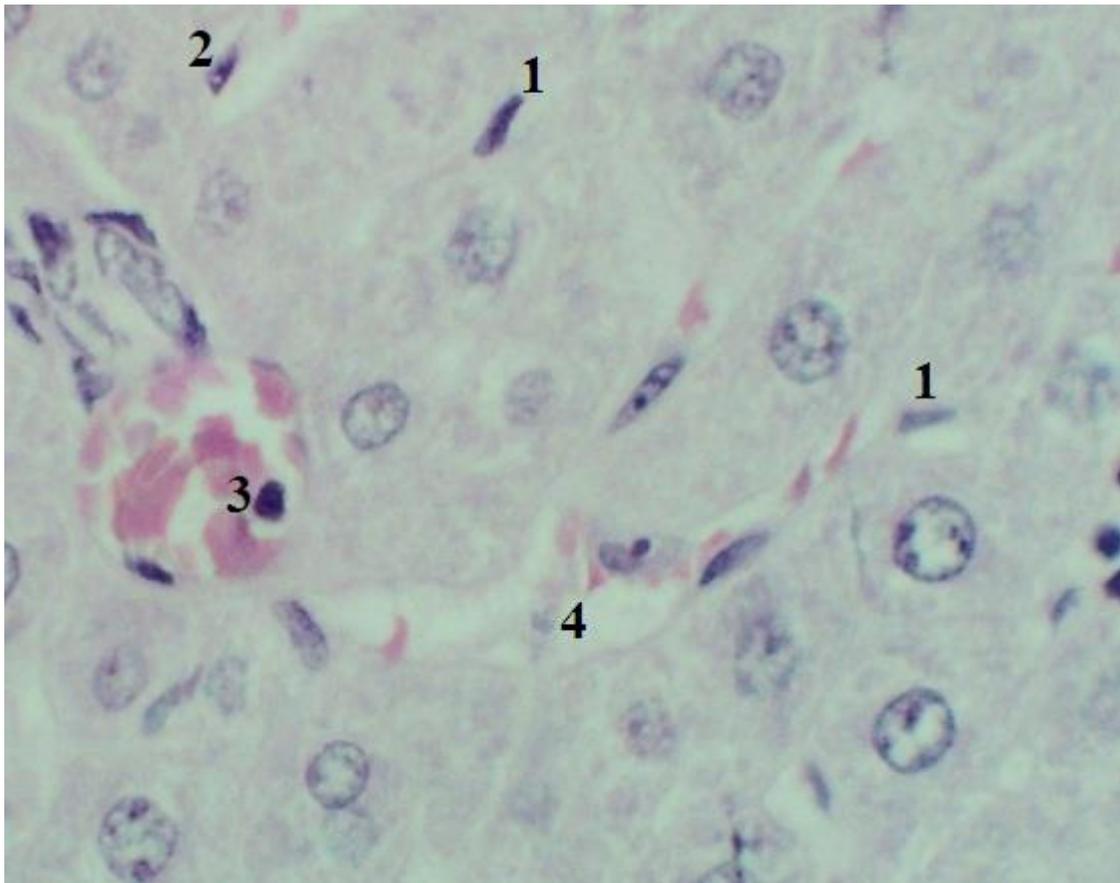


Рис. 4.4. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 180-й день експерименту. 1 – КК; 2 – клітина Іто; 3 – внутрішньосудинний лейкоцит; 4 – синусоїдний капіляр. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 20, Об.: 40.

Кількість КК починає дещо знижуватись в порівнянні з попереднім терміном спостереження, але все ще залишається збільшеною в 4,5 рази порівнюючи з контрольною групою тварин (Табл.4.1).

4.3. Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 180-й день експерименту

Гістологічно 180-та доба експерименту характеризується стабілізацією процесу як у стромі, так і в паренхімі печінки, але набряк залишається. Клітини Іто та лімфоцити залишаються на рівні контрольних значень, статистично значущих відхилень немає. КК виявляються у стромі та між гепатоцитами в рівній кількості (Рис.4.5).

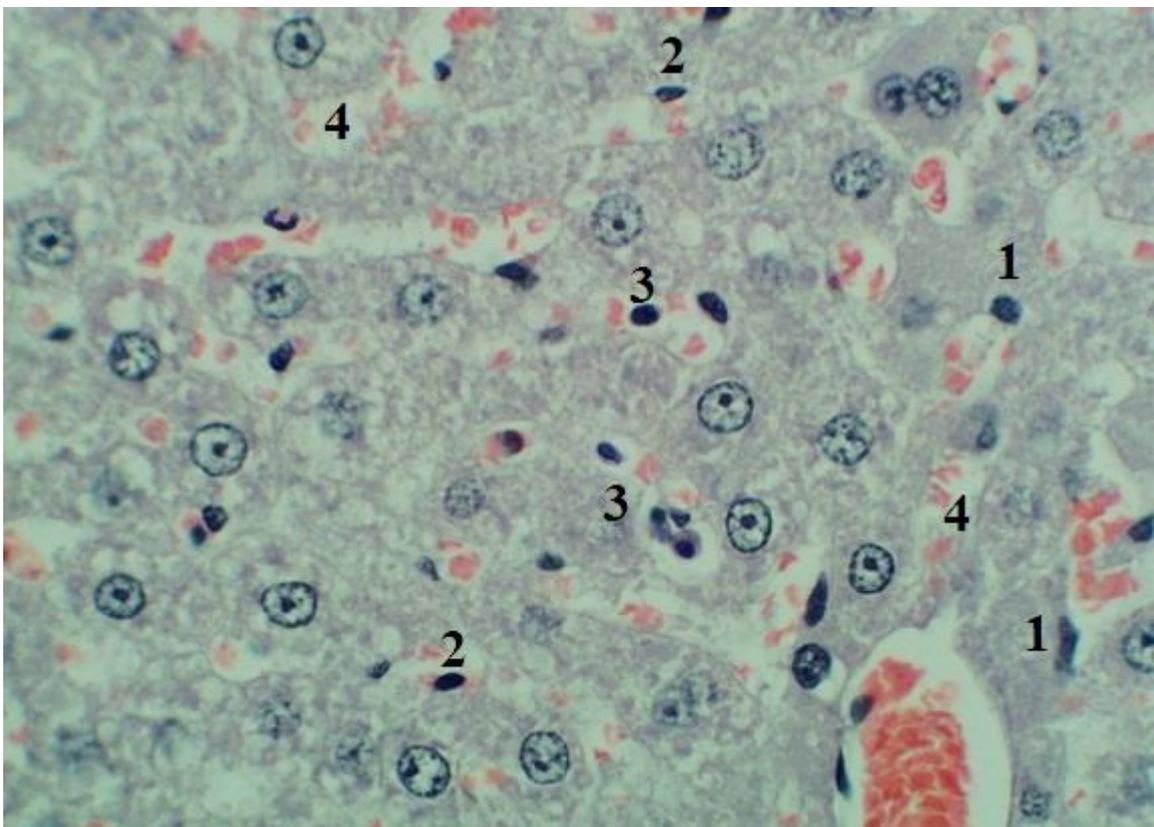


Рис. 4.5. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 180 день експерименту. 1 – КК; 2 – клітини Іто; 3 – лімфоцити; 4 – синусоїдні капіляри. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Хоча показник залишається високим порівняно з контролем (при $p < 0,01$), проте у порівнянні з 90-ю добою, їх кількість знижується на 18%, що вказує на поступове згасання гостроти процесу.

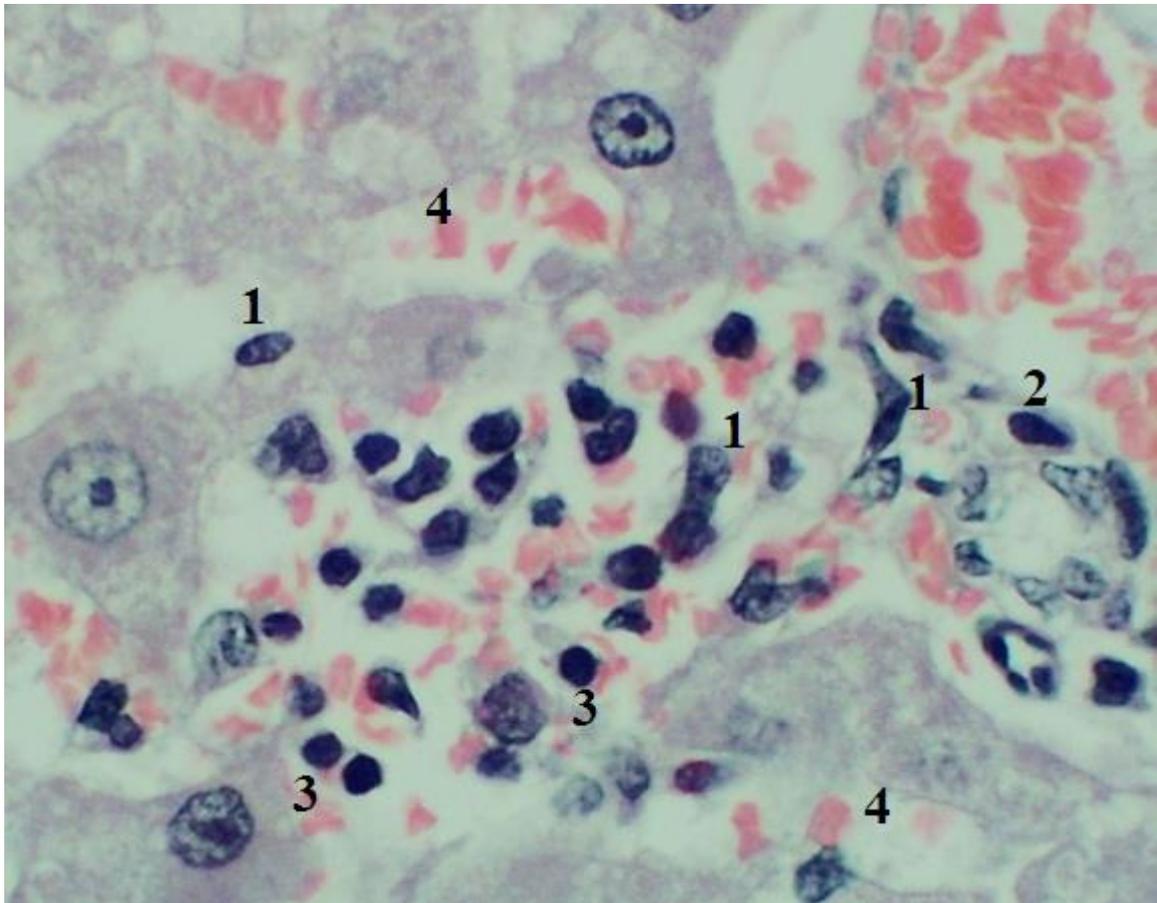


Рис. 4.6. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 180-й день експерименту. 1 – КК; 2 – клітина Іто; 3 – лімфоцити; 4 – синусоїдні капіляри. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40.

4.4. Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 270-й день експерименту

При гістологічному дослідженні напівтонких зрізів печінки на 270-ту добу експерименту структура печінкової часточки була збережена. Синусоїди

мали чіткий контур, без проявів венозного застою, в просвіті визначалися еритроцити та лейкоцити, стінки незначно були розширені. (Рис. 4.7).

При кількісному дослідженні непаренхіматозних клітин, а саме імунокомпетентних, нами було виявлено статистичне збільшення їх показника. Так, клітини Іто виявили повторне зростання до $33,0 \pm 0,96$ (при $p < 0,01$), у порівнянні до показника контролю на 29%. Цей показник був найвищий для цих клітин за весь період експерименту.

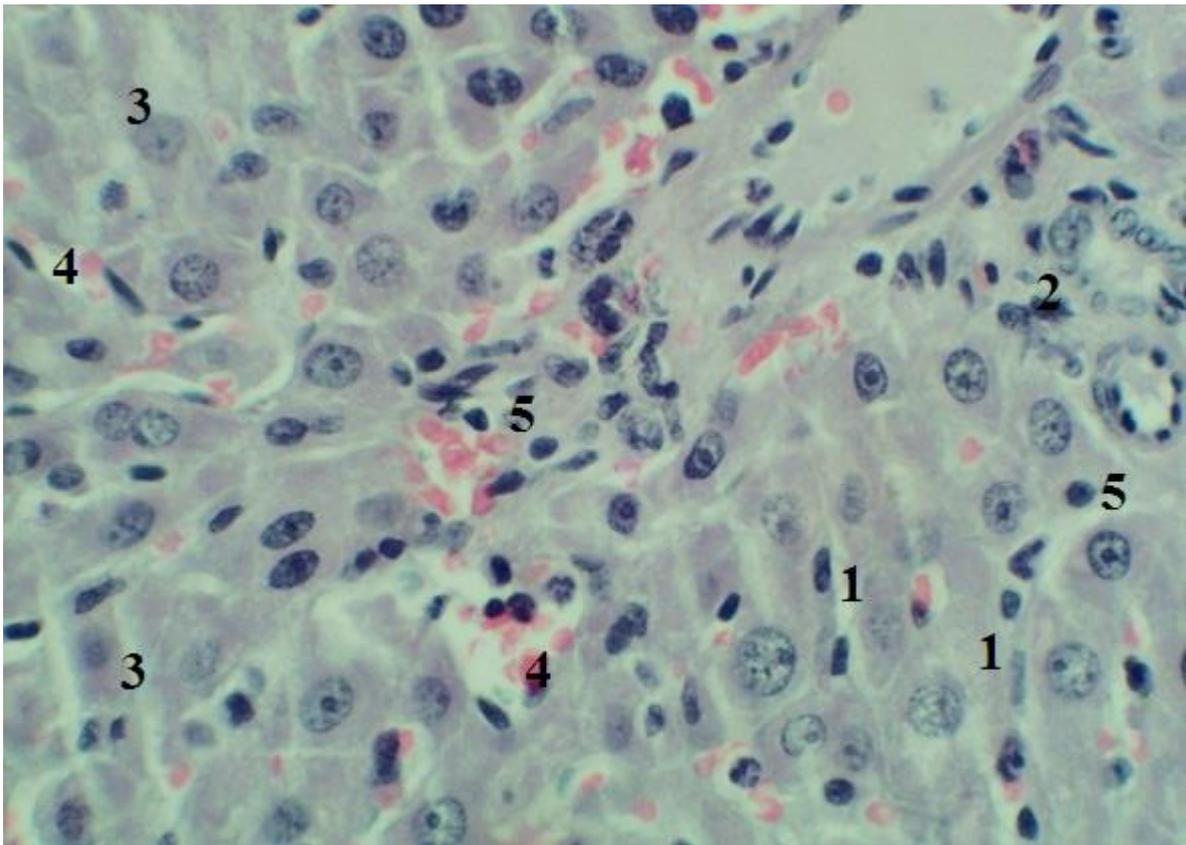


Рис. 4.7. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 270-й день експерименту. 1 – КК; 2 – печінкова тріада; 3 – гепатоцити 4 – синусоїди; 5 - лімфоцити. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Лімфоцити також статистично значуще перевищували показники контрольної групи $-14,56 \pm 1,0352$ в полі зору (при $p < 0,05$). Рівень макрофагів зберігався на стабільно високому рівні (майже без змін відносно 180-ї доби) - $42,84 \pm 4,1472$ в полі зору.

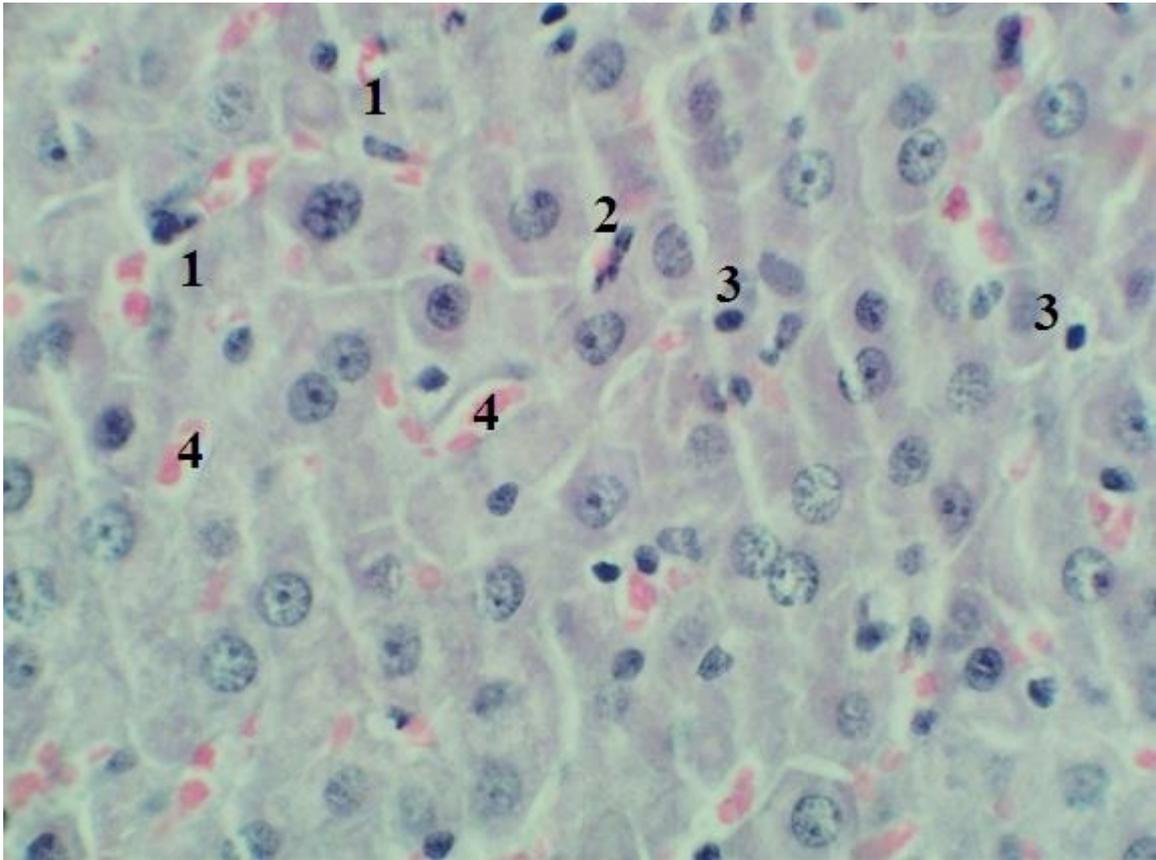


Рис. 4.8. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 270-й день експерименту. 1 – КК; 2 – клітина Іто; 3 – лімфоцити; 4 – синусоїдні капіляри. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

4.5. Характеристика імунокомпетентних клітин печінки щурів при введенні триптореліну і його корекції кверцетином на 365-й день експерименту

На 365-ту добу експерименту структура печінкових часточок була збережена. Синусоїди мали чіткі контури, але з проявами венозного застою, в просвіті виявлялися еритроцити та лейкоцити, подекуди спостерігався еритроцитарний складж. Стінки судин були потовщені за рахунок набряку.

Візуально жовчні протоки збільшені, набряклі. Епітелій проток ущільнений за рахунок зовнішнього набряку, стінки проток – зі збільшеною кількістю лімфоцитів та макрофагів (Рис. 4.9).

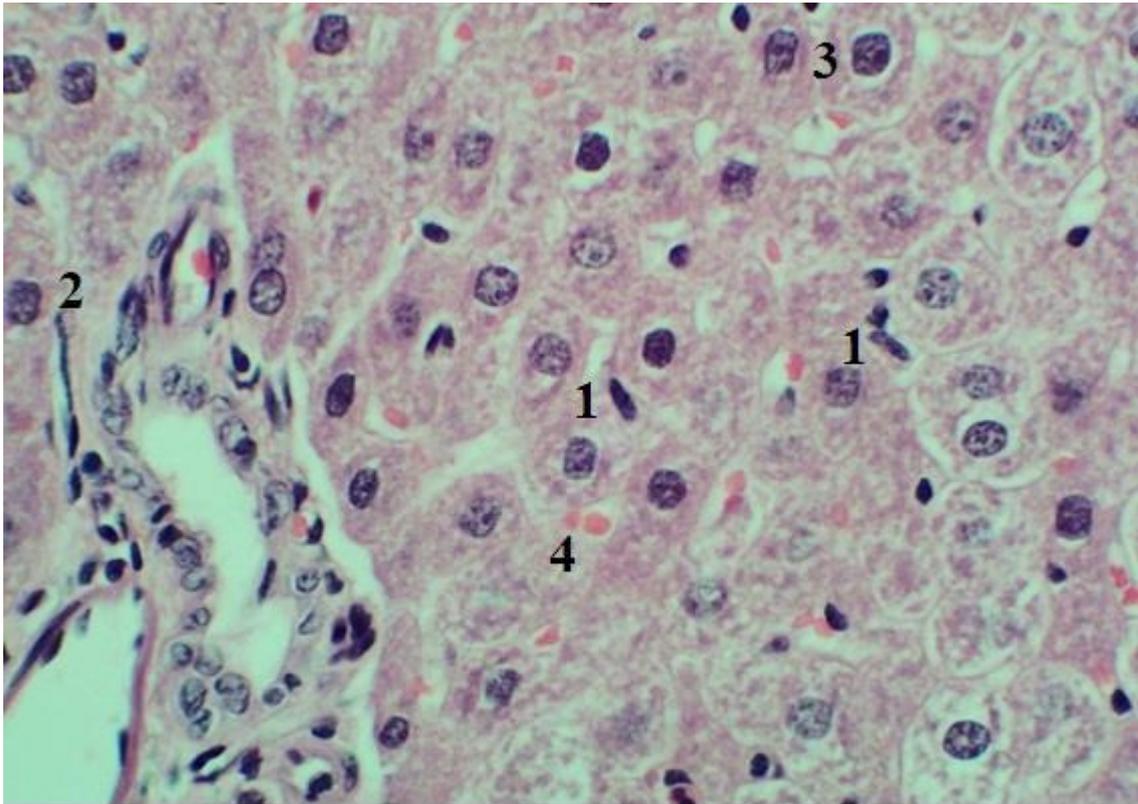


Рис. 4.9. Структурна організація печінки ЕГ тварин при введенні триптореліну та кверцетину на 365-й день експерименту. 1 – КК; 2 – печінкова тріада; 3 – гепатоцит; 4 – синусоїдний капіляр. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Кількість лімфоцитів досягла свого максимуму за весь час експерименту і становила $16,16 \pm 1,1328$ при $p < 0,01$ до показника контрольної групи тварин, що вказує на посилення ролі специфічного імунітету на пізніх етапах експерименту.

Кількість клітин Іто була стабільна – $25,68 \pm 0,8784$, і статистично не відрізнялася від показника контрольної групи (Табл.4.1). КК - $51,92 \pm 5,1568$ в полі зору (більше на 21% від 270-ї доби спостереження), що підкреслює хронічний характер стимуляції імунної системи.

Поетапний (стадійний) висновок

Рання стадія (30 діб).

Через 30 діб після введення триптореліну з додаванням кверцетину відзначається активація усіх досліджуваних клітинних популяцій. Достовірне збільшення кількості клітин Іто та лімфоцитів свідчить про запуск реакцій адаптації та імунного реагування, тоді як різке зростання макрофагів указує на інтенсивну активацію системи мононуклеарних фагоцитів і формування вираженої запальної відповіді.

Стадія відносної адаптації (90 діб).

На 90-ту добу кількість клітин Іто та лімфоцитів нормалізується і наближається до контрольних значень, що можна розцінювати як часткову адаптацію печінкової тканини до тривалого впливу триптореліну. Водночас подальше достовірне зростання макрофагів свідчить про збереження активного імунного процесу та пролонговану фагоцитарну відповідь при хімічній кастрації.

Стадія стабілізованої імунної реакції (180 діб).

Через 180 діб показники клітин Іто та лімфоцитів залишаються стабільними і не відрізняються від контролю, що вказує на відсутність їх надмірної активації. Проте високий рівень макрофагів підтверджує формування стійкої локальної імунної реакції в печінці, характерної для тривалого подразнення або хронізації процесу.

Стадія вторинної активації (270 діб).

На 270-ту добу знову фіксується достовірне збільшення кількості клітин Іто та лімфоцитів, що може відображати вторинну хвилю імунної перебудови та залучення стромально-клітинних механізмів регуляції. Збереження підвищеного рівня макрофагів підтверджує безперервність імунного контролю та ремоделювання тканини.

Пізня стадія (365 діб).

Через 365 діб кількість клітин Іто повертається до контрольних значень, що свідчить про завершення їх активної участі в реакціях перебудови.

Водночас достовірне підвищення лімфоцитів і макрофагів вказує на тривале функціонування імунної складової, що може розцінюватися як ознака сформованої хронічної імунної відповіді з переважанням клітинного імунітету.

Таким чином, дія триптореліну з додаванням кверцетину реалізується через послідовну зміну стадій — від ранньої активації та адаптації до стабілізації й вторинної імунної активації, з домінуючою роллю макрофагів упродовж усього періоду спостереження.

4.6. Резюме.

Введення триптореліну з корекцією кверцетином спричиняє суттєві та тривалі зміни імунокомпетентного клітинного складу печінки. Найбільш стабільною та вираженою реакцією є достовірне й тривале зростання кількості макрофагів у всі терміни спостереження, що свідчить про активацію макрофагальної ланки місцевого імунного захисту та розвиток хронічної імунної відповіді. Зміни кількості клітин Іто та лімфоцитів мають хвилеподібний характер із періодами нормалізації та повторної активації, що вказує на адаптаційно-компенсаторні процеси в печінці під впливом введення кверцетину.

Публікації по темі дисертації

Статті в журналах:

1. Рудь М.В. Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. (2021) *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 21(2), 203–207 (Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті) [185].

2. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Vilkhova O. V., Skotarenko T. A. The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *World of*

Medicine and Biology, 2021, №2(76), 238-242. *(Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)* [184].

3. Rud, M., Shepitko, V., Stetsuk, Y., & Akimov, O. (2022). The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. The Medical and Ecological Problems, 26(1-2), 22-25. <https://doi.org/10.31718/mep.2022.26.1-2.06> *(Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)*. [186].

4. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O.Ye. Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment. Bulletin of problems biology and medicine», 2022, Issue 2 Part 2, 165, 151-5. *(Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)* [187].

5. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Sydorenko A. G., Voloshyna O. V., Starchenko I. I., Nalyvaiko A. O. Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day. World of Medicine and Biology, 2023, №2 (84), 229-33. *(Особистий внесок здобувачки – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)* [188].

Тези доповідей:

1. Рудь МВ, Шепітько ВІ. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя

заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р.; Полтава, 2021; с. 80–1. *(Здобувачці належать результати дослідження процесів продукування оксиду азоту при тривалій центральній депривації синтезу тестостерону, викликаній триптореліном в антигенпрезентуючих клітинах печінки)* [190].

2. Рудь МВ, Вільхова ОВ, Скотаренко ТА. Морфо-функціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки на фоні пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; м. Полтава, 8 жовтня 2021р.; Полтава, 2021; с. 145-7. *(Здобувачці належать результати досліджень реакції імунокомпетентних клітин печінки, за умов блокування синтезу тестостерону центрального генезу)* [191].

3. Rud M, Stetsuk Y. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання); м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р; Полтава, 2023; с. 107–8. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [194].

5. Rud MV, Stetsuk YeV. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population. Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського; м. Київ, 8–9 червня 2023; Київ, 2023; с. 101–2. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [195].

5. Rud MV, Stetsuk YeV. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population. Теорія та практика сучасної морфології» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р; Дніпро, 2023; с. 94–5. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [196].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ КІЛЬКІСНИХ ПОКАЗНИКІВ S100A9, CD68+ ТА CD163+ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ

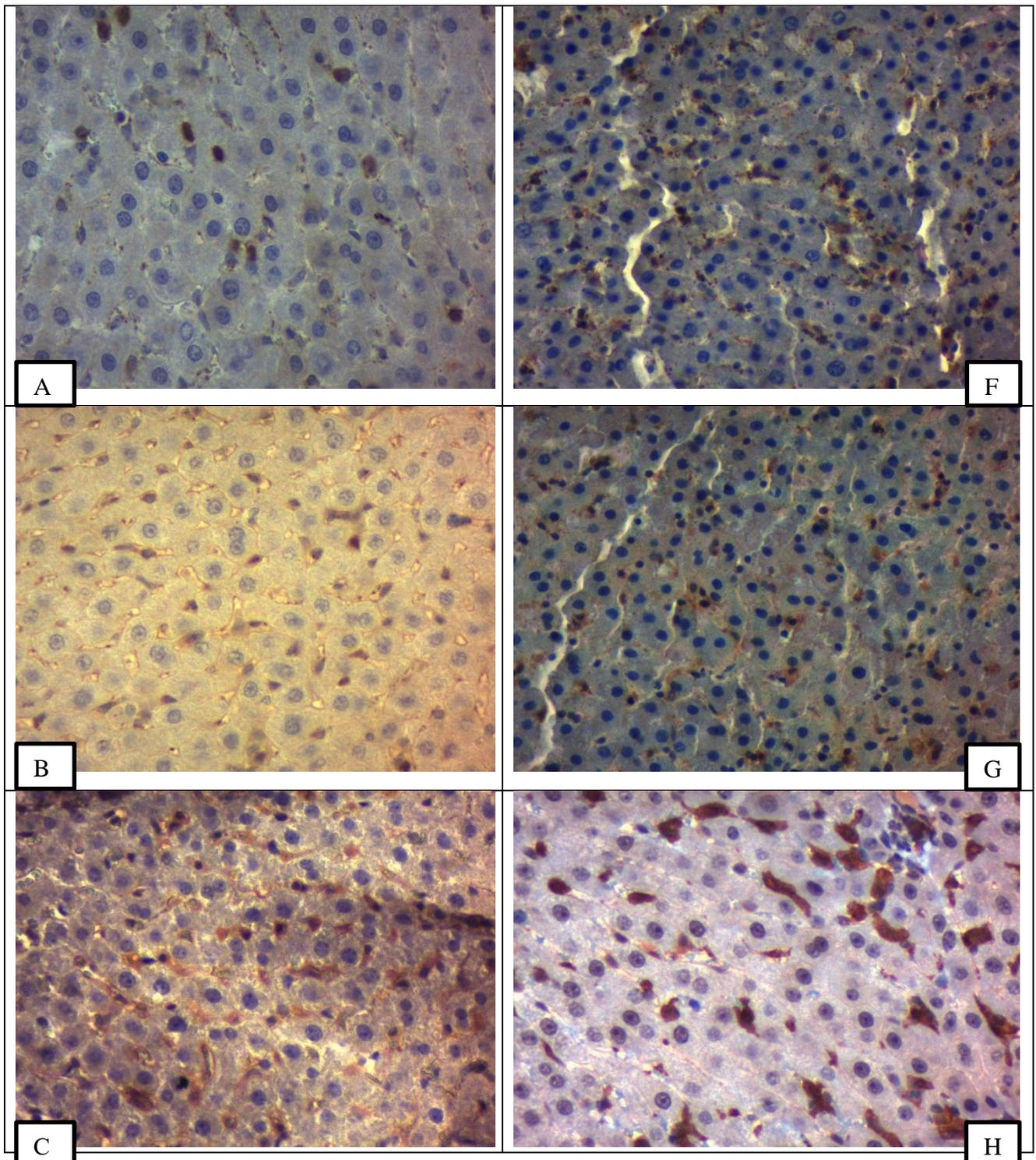
5.1. Характеристика експресії кількісного показника S100A9 в тканинах печінки при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та при введенні кверцетину.

Молекулярні патерни, пов'язані з ушкодженням (DAMPs), або аларміни, - це ряд молекул, що вивільняються клітинами, які перебувають у стані стресу, зазнають впливу бактеріальної інфекції або асептичного пошкодження, і діють як сигнали небезпеки, що сприяють розвитку та посиленню запальної реакції. В умовах запалення вивільняються аларміни S100A8 і S100A9, які утворюють стабільний гетеродимер під назвою «кальпротектин».

Аларміни S100A8 та S100A9 – це ендogenous молекули, що вивільняються у відповідь на вплив факторів навколишнього середовища та пошкодження клітин. Вони конститутивно експресуються в імунних клітинах, таких як моноцити та нейтрофіли, і їх експресія підвищується за умов запалення. Молекулярні механізми, що регулюють запальні шляхи значною мірою невідомі, тому ідентифікація ранніх імунних ефекторів є важливою для розуміння патології. Ґрунтуючись на наших попередніх дослідженнях проявів патологічних змін у різних органах тварин при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном, ми шукали докази експресії S100A9, опосередковану алармінами, у моделі хімічної кастрації щурів. По тому, досліджували механізми, за допомогою яких білки S100 можуть регулювати вивільнення медіаторів запалення та синтез матриксу в клітинах печінки щурів.

Так, при дослідженні нами напівтонких зрізів протягом усього періоду спостереження відмічалось поступове зростання експресії кальгрануліну В у І і ІІ групах. Спочатку він містився в цитоплазмі, але по мірі розширення

запальних процесів з'являвся також у позаклітинному просторі. На завершальних стадіях експерименту білок був виявлений у розширених просторах Діссе разом з ексудатом. Поодинокі нейтрофіли в стані дегрануляції, розташовані між гепатоцитами, нагадують веретеноподібні клітини. Вони також визначаються у міжклітинній речовині у проміжках між печінковими балками. Клітини Купфера, ймовірно, експресують кальгранулін В і можуть бути візуалізовані.



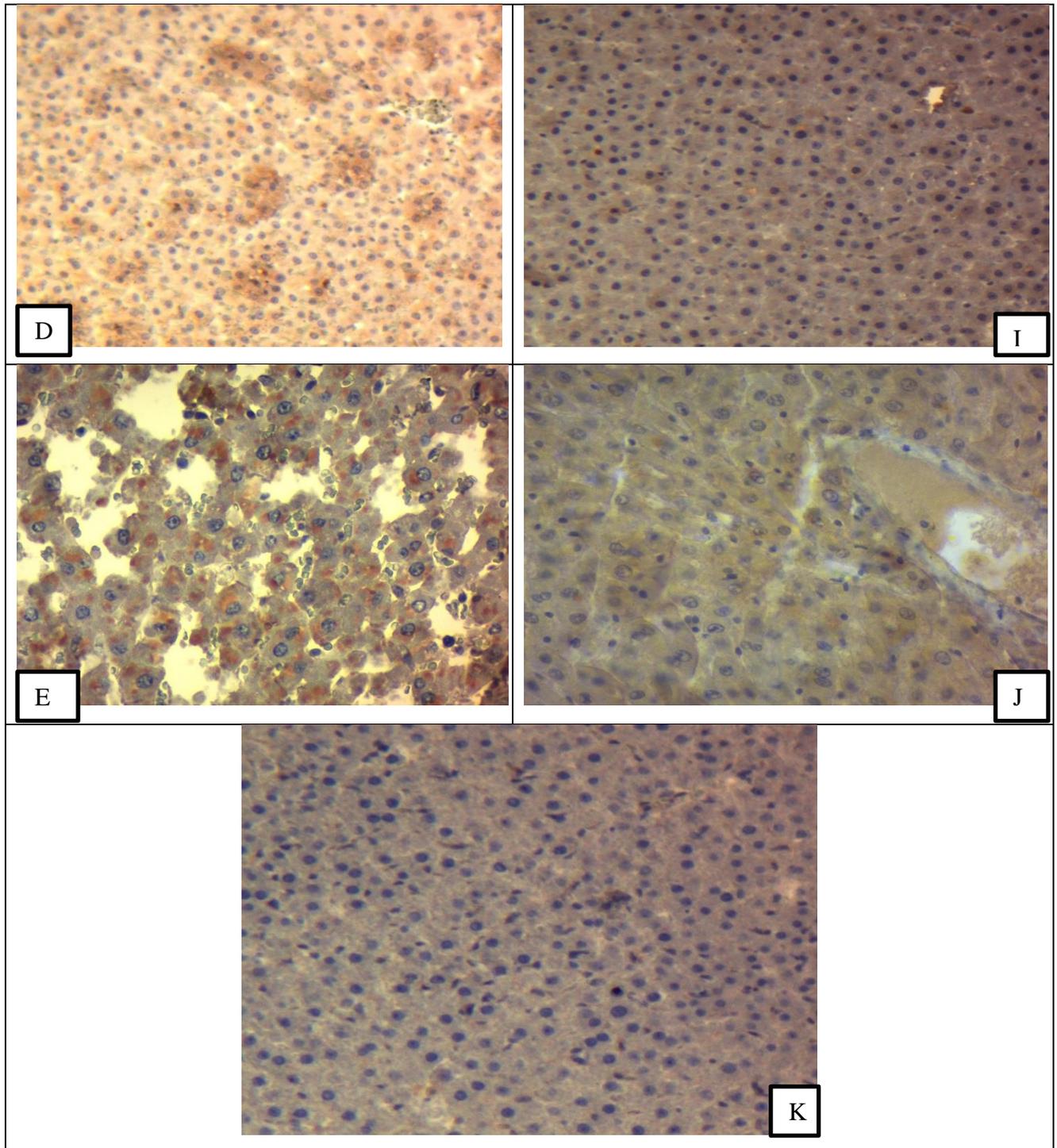


Рис. 5.1. Експресія протеїну S100A9 при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном в ЕГ I (А на 30-й день; В – 90-й день; С – 180-й день; D – 270-й день; Е – 365-й день експерименту), та в ЕГ II при введенні триптореліну і кверцетину (F на 30-й день; G – 90-й день; H – 180-й день; I – 270-й день; J – 365-й день експерименту), K – контрольна група; збільшення x400

У печінці тварин, вилучених на 30-у добу експерименту, експресія протеїну S100A9 визначалася переважно у цитоплазмі нейтрофілів та моноцитів (Рис. 5.1.A, 5.1.F). На 90-у добу експерименту ознаки експресії протеїну S100A9 поширювалися на клітини Купфера та клітини Іто, що свідчить про більш глибоке залучення резидентних імунокомпетентних клітин печінки на цьому етапі в обох експериментальних групах тварин. Виявлені зміни стосувалися також клітин, локалізованих в межах капілярного русла (Рис. 5.1.B, 5.1.G).

Для змін у тканині печінки на 180-у добу експерименту виявилися притаманними субтотальна експресія протеїну S100A9 у цитоплазмі імунокомпетентних клітин та позаклітинна експресія, подекуди із залученням простору Діссе.

270-а доба експерименту охарактеризувалася поширенням експресії протеїну S100A9 на переважну більшість клітин печінки, із залученням гепатоцитів, а також наростанням проявів екстрацелюлярного депонування

При дослідженні препаратів, отриманих на 365-у добу експерименту, експресія протеїну S100A9 мала тотальний характер із залученням клітин паренхіми та елементів строми.

5.1.1. Висновок

Встановлено, що тривале блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призводить до прогресуючого зростання експресії білка S100A9 (кальгрануліну В) у тканинах печінки. Це підтверджує роль цього аларміну як раннього ефектора імунної відповіді та ключового медіатора хронічного запального процесу, спричиненого хімічною кастрацією у результаті введення триптореліну.

Нами виявлено чітку стадійність поширення запального сигналу в тканинах печінки, а саме.

Ранній етап (30-а доба): експресія білка S100A9 обмежена переважно цитоплазмою мігруючих імунних клітин (нейтрофілів та моноцитів).

Середньостроковий етап (90–180-і доби): залучення резидентних макрофагів (клітин Купфера), клітин Іто та поява позаклітинної гепатоцитарної експресії, зокрема в просторах Діссе, що свідчить про вихід білка в екстрацелюлярний матрикс.

Пізній етап (270–360-а доби): перехід від локального стромального запалення до тотального ураження органа з поширенням експресії S100A9 на гепатоцити (паренхіму) та всі елементи строми.

Поява S100A9 у просторі Діссе та його депонування у позаклітинному матриксі вказують на активацію механізмів, що регулюють синтез медіаторів запалення та структурну перебудову (ремоделювання) печінки при тривалому гормональному дисбалансі.

Наростання інтенсивності та зміна локалізації експресії S100A9 від внутрішньоклітинної до тотальної позаклітинної (на 365-у добу) дозволяє використовувати цей показник як надійний критерій оцінки глибини структурно-функціональних пошкоджень печінки при моделюванні центрального гіпогонадізму.

5.2 Характеристика кількісного показника макрофагів печінки за рівнем експресії рецепторів CD68+ та CD163+ при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Аналіз динаміки змін експресії рецепторів CD68+ показав зростання їх кількості на поверхні клітин макрофагального ряду з максимумом на 90-у добу спостереження (у 5,25 разів, порівнюючи з контрольною групою тварин). Рівень їх експресії на 180-у та 270-у добу експерименту не перевищував відповідний рівень на 30-у добу. Проте на 365-у добу було відмічено збільшення кількості рецепторів на поверхні клітин, хоча й менше ніж на 90-у добу, а саме у 4,43 рази, при порівнянні з контрольною групою тварин.

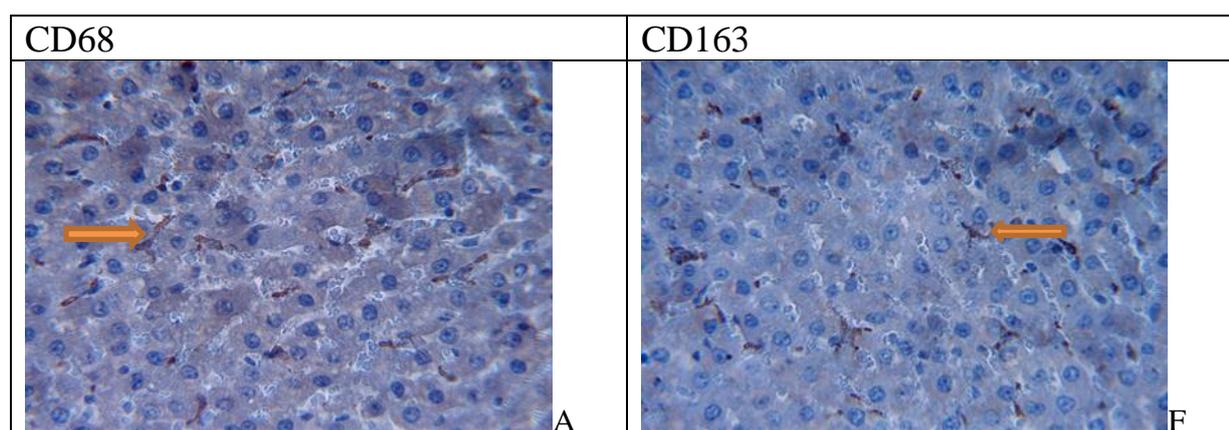
Таблиця 5.1

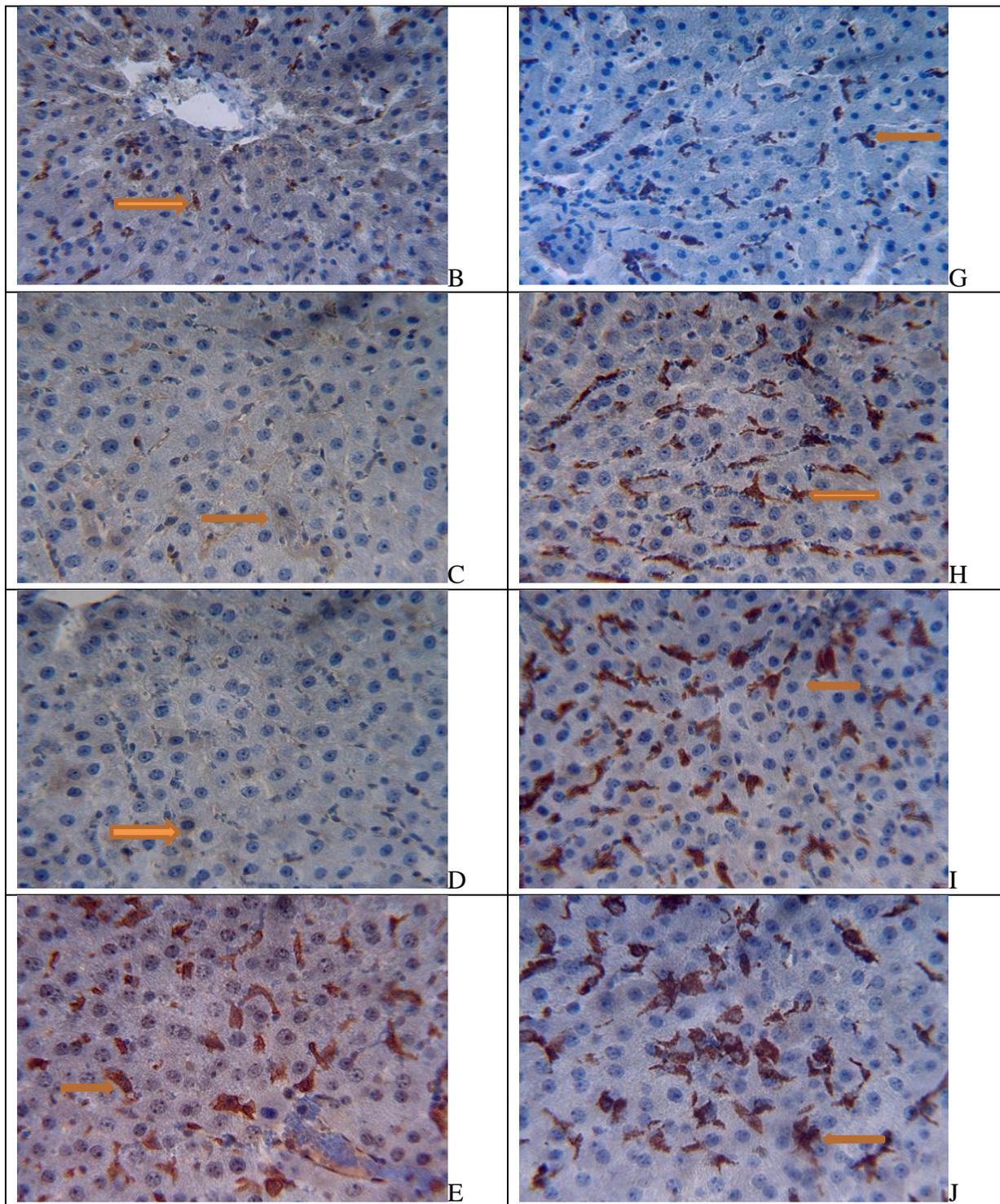
Кількісна характеристика CD 68+ та CD 163+ макрофагів печінки при введенні триптореліну ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні *400.

	CD 68+	CD 163+
Контрольна	5,58±0,70	4,5±0,68
30 діб	25,72±1,67**	20,11±1,9**
90 діб	33,09±1,63**	25,12±2,23**
180 діб	38,09±1,92**	33,39±3,92**
270 діб	41,93±1,55**	35,17±2,22**
365 діб	41,23±2,77**	38,22±3,19**

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження

При проведенні аналізу динаміки змін експресії рецепторів CD163+ на поверхні імунокомпетентних клітин печінки нами було відмічено поступове їх зростання, з максимумом на 180-у добу експерименту (у 8,03 рази, при порівнянні з контрольною групою). При дослідженні наступних термінів спостерігалось зменшення експресії відповідного рецептора, при цьому на 365-ту добу кількість клітин все ще перевищувала рівень 30-ї та 90-ї доби експерименту (у 1,09 та 1,06 рази, відповідно).





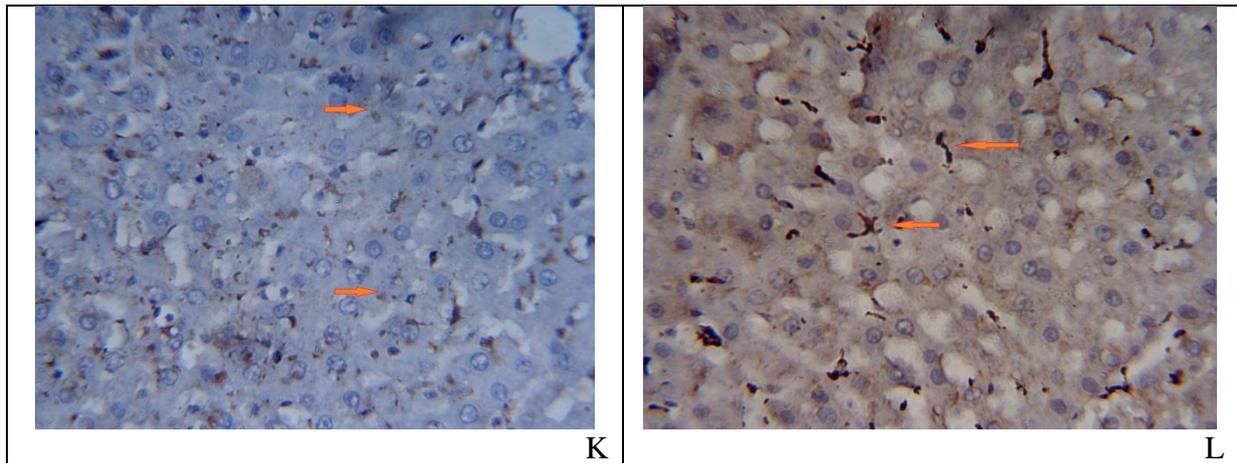


Рис.5.2. Експресія CD68+ ЕГ І тварин. (А на 30-й день; В – 90-й день; С – 180-й день; D – 270-й день; Е – 365-й день експерименту; К - контроль), збільшення $\times 400$. Експресія CD163+ у ЕГ І тварин (F на 30-й день; G – 90-й день; H – 180-й день; I – 270-й день; J – 365-й день експерименту; L - контроль), збільшення $\times 400$;

5.3. Характеристика кількісного показника макрофагів за рівнем експресії рецепторів CD68+ та CD163+ при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та введенні кверцетину.

При дослідженні гістологічних препаратів, отриманих від тварин експериментальної групи II, відповідно до тривалості експерименту, підраховували клітини, які реагували з маркерами CD68+ та CD163+ з наступним порівнянням.

Так, у печінці тварин, яких вилучали на 30-у добу експерименту, експресія CD68+ визначалася переважно в синусоїдних капілярах, у безпосередній близькості до гепатоцитів із більш темною цитоплазмою. Кількість CD68+ клітин становила $12,24 \pm 1,57$ в полі зору, при $p < 0,01$, що в 2,2 рази більше, ніж у контрольній групі (Таб. 5.2). Експресія CD163+ спостерігалася в макрофагальних клітинах виключно в просвіті капілярів і становила $25,04 \pm 1,79$ ($p < 0,01$), що в 5,56 рази вище, ніж у контрольній групі.

Таблиця 5.2

**Кількісна характеристика макрофагів печінки при введенні
триптореліну та кверцетину. (M±m) в полі зору при збільшенні *400**

	CD 68+	CD 163+
Контрольна	5,58±0,70	4,5±0,68
30 діб	12,24±1,57	25,04±1,78
90 діб	29,34±1,86	25,66±4,22
180 діб	8,96±1,76	36,12±3,93
270 діб	9,86±1,46	33,26±3,69
365 діб	24,7±3,54	27,2±4,68

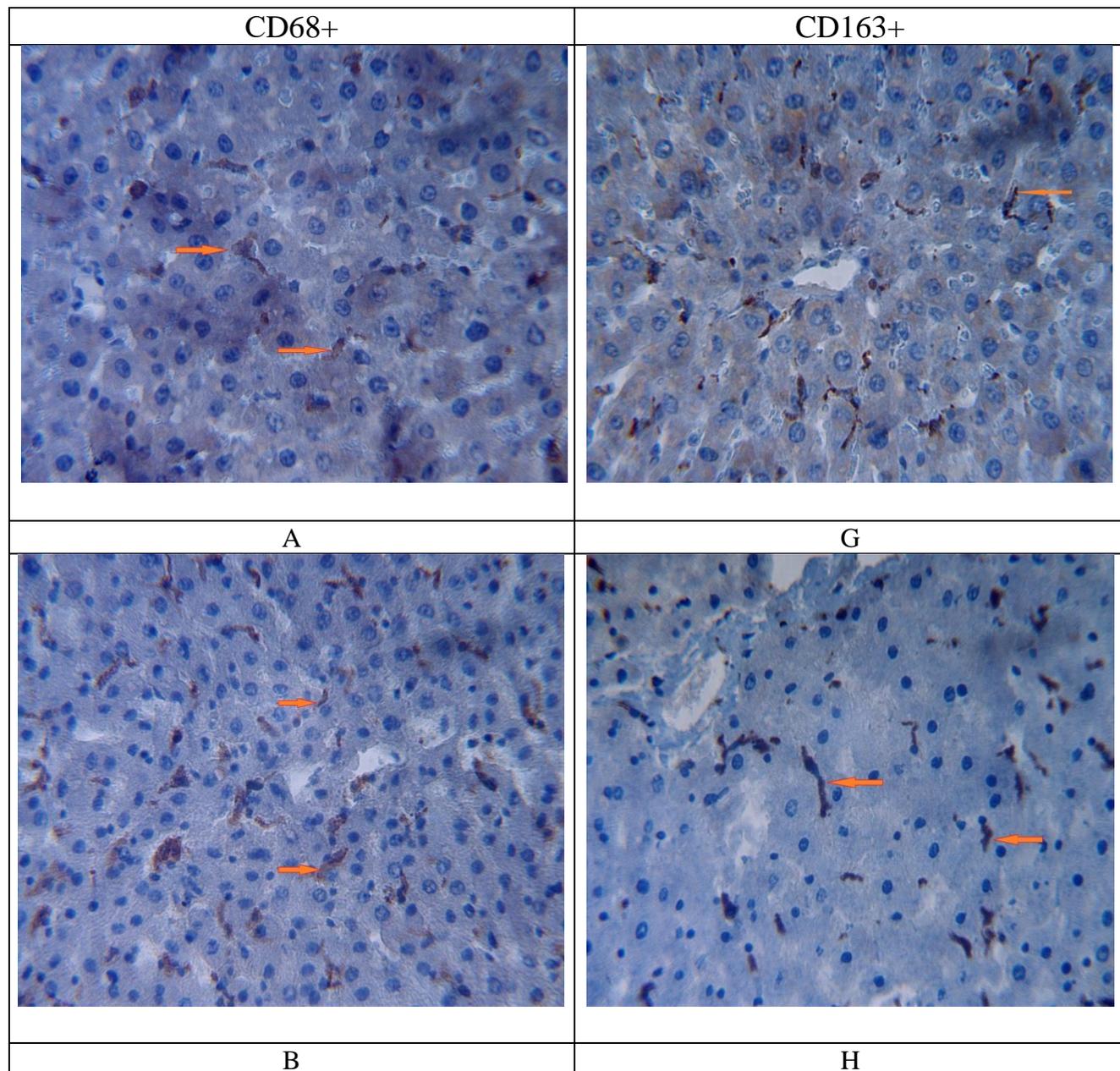
Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження

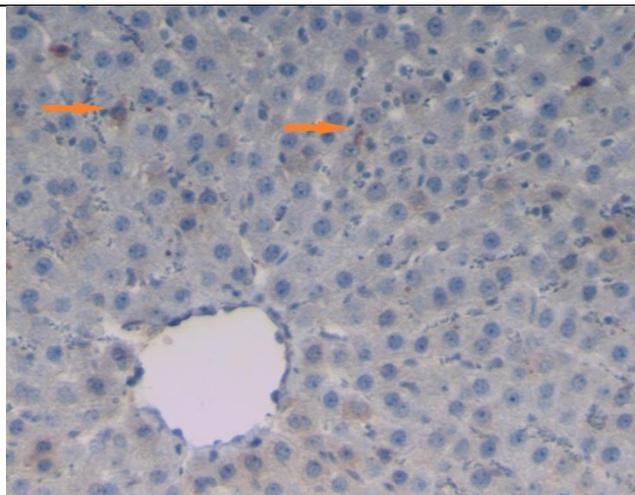
90-та доба експерименту характеризувалася поступовим збільшенням кількості макрофагальних клітин як у синусоїдальному просторі, так і в просторі Діссе. Кількість клітин з експресією CD68+ та CD163+ становила 29,34±1,86 та 25,66±4,22 відповідно, при $p < 0,01$, що в 5,46 разів більше, ніж у препаратах контрольної групи.

На 180-ту добу спостереження визначалося статистично значуще зниження експресії CD68+ порівняно з попереднім періодом обстеження, зі значенням 8,96±1,768, при $p < 0,05$ в межах FOV. І навпаки, експресія CD163+ в клітинах була підвищена, досягнувши значення 36,12±3,93 при $p < 0,01$, що на 40% більше, ніж у попередньому періоді обстеження.

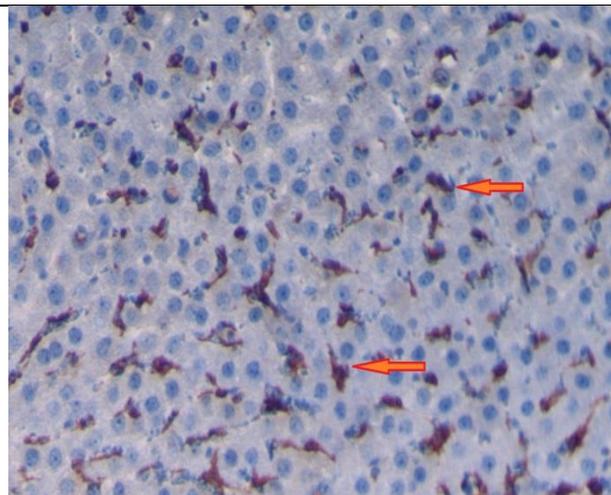
Гістологічні препарати, виготовлені на 270-у добу експерименту, продемонстрували поступове збільшення експресії CD68+ клітин – 9,86±1,47, при $p < 0,05$ в межах FOV, порівняно з попереднім терміном спостереження. Однак, це зростання не було статистично значущим. Експресія CD163+

спостерігалася у $33,26 \pm 3,7$ при $p < 0,01$, із широким залученням клітин печінки, в тому числі гепатоцитів.

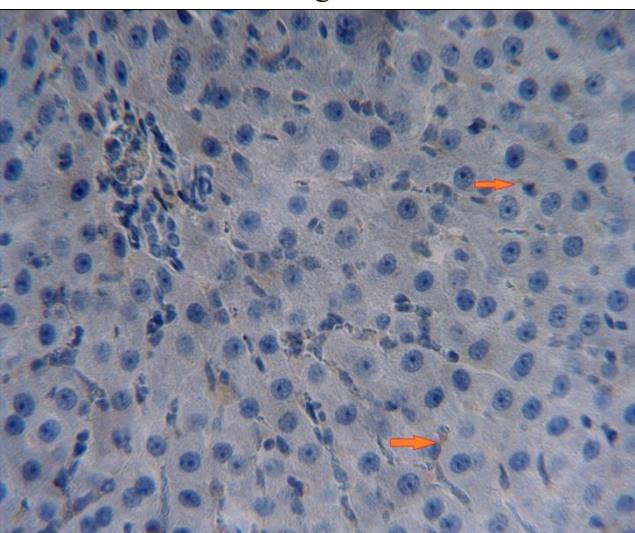




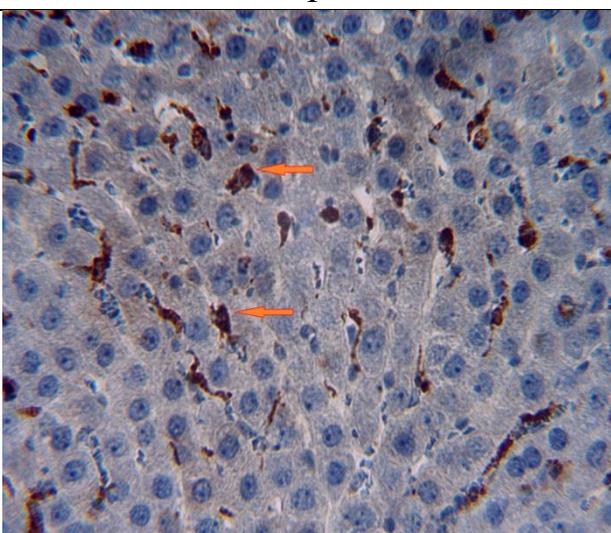
C



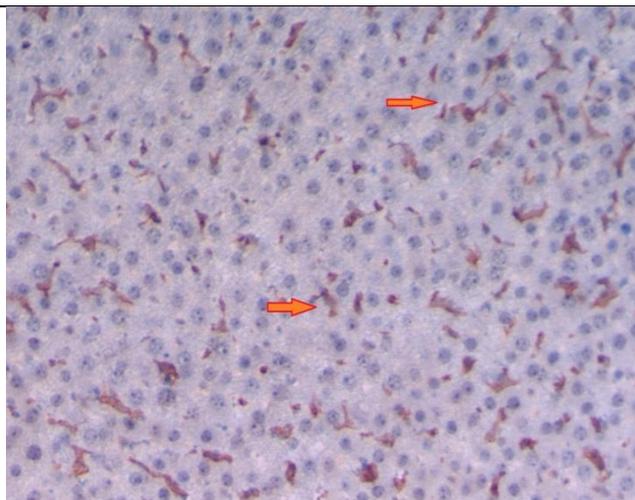
I



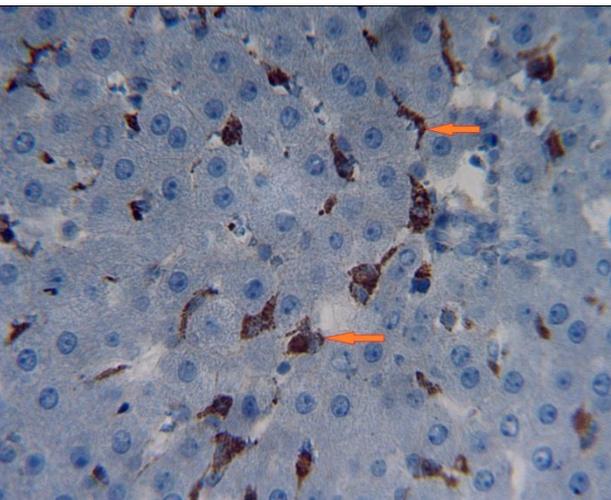
D



J



E



K

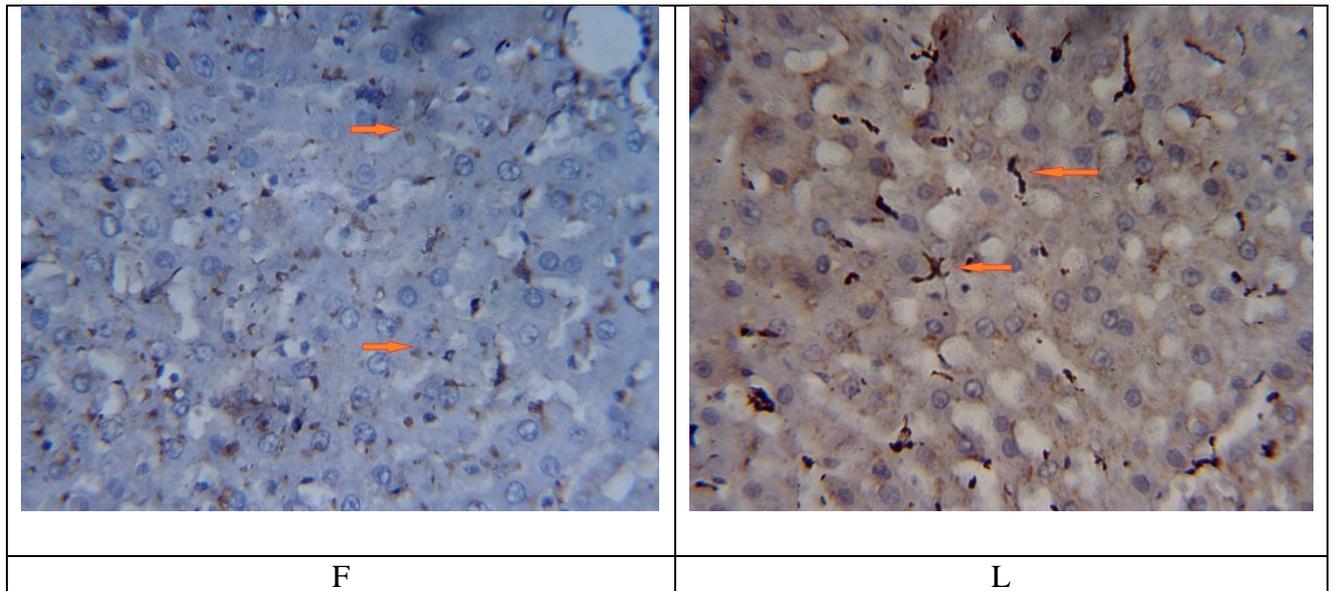


Рис.5.3. Експресія CD68+ ЕГ II тварин. (А на 30-й день; В – 90-й день; С – 180-й день; D – 270-й день; Е – 365-й день експерименту; F - контроль), збільшення x400. Експресія CD163+ у ЕГ II тварин (G на 30-й день; H – 90-й день; I – 180-й день; J – 270-й день; K – 365-й день експерименту; L - контроль), збільшення x400;

На 365-ту добу експерименту ми спостерігали, що експресія CD68+ становила $24,7 \pm 3,54$ при $p < 0,01$, а CD163+, відповідно – $27,2 \pm 4,68$ при $p < 0,01$. Ці показники більш ніж у п'ять разів перевищують показники контрольної групи.

5.4. Порівняльна характеристика кількісного показника макрофагів за рівнем експресії рецепторів CD68+ та CD163+ в контрольній та експериментальних групах

Нами був розрахований та проаналізований індекс поляризації макрофагів, а саме їхнє співвідношення – CD163+/CD68+. Це найбільш прогресивний показник у сучасній гепатології, який демонструє перехід від фази руйнування (M1) до фази відновлення (M2).

Таблиця 5.3.

Індекс поляризації (CD163+/CD68+)

Група	Тр	Тр+К
30-та доба	0,78±0,012	2,05±0,009
90-та доба	0,75±0,011	0,87±0,012
180-та доба	0,88±0,009	4,00±0,012
270-та доба	0,84±0,010	3,33±0,009
365-та доба	0,92±0,008	1,10±0,008
Контроль	0,81±0,009	

Цей коефіцієнт відображає якісний склад макрофагальної інфільтрації. Значення $>0,81$ вказує на домінування регенераторних процесів, а $<0,81$ — на переважання запальної деструкції.

5.5. Резюме

Динаміка *прозапальної відповіді* (CD68+). Встановлено, що блокування синтезу лютеїнізуючого гормону викликає ранню активацію загальної популяції макрофагів. Максимальний пік експресії CD68+ припадає на 90-ту добу (зростання у 5,25 рази), що вказує на інтенсивну фазу фагоцитарної активності та первинну відповідь на пошкодження печінки. Друга хвиля зростання на 365 добу свідчить про перехід процесу у хронічну форму з повторною активацією імунних клітин.

Динаміка *регуляторної відповіді* (CD163+). Експресія маркера CD163+, що характеризує альтернативно активовані макрофаги (тип M2), має іншу часову траєкторію з максимумом на 180-ту добу (зростання у 8,03 рази). Це свідчить про спробу організму компенсувати запалення та активувати процеси репарації у відповідь на тривалий стрес.

Ефект «ножиць» між CD68+ та CD163+: На 180-ту добу спостерігається цікава закономірність: суттєве зниження кількості CD68+ клітин на фоні

пікових значень CD163+. Це вказує на тимчасову зміну фенотипу макрофагів з прозапального на регенеративно-протизапальний. Однак до 365-ї доби ця рівновага втрачається, і обидва показники залишаються високими, що підтверджує тотальне залучення тканин печінки у патологічний процес.

Просторова локалізація. Доведено, що на початкових етапах (30-а доба) макрофаги локалізуються переважно в синусоїдах, але з прогресуванням експерименту (90–180-ї доби) вони мігрують у простори Діссе. На пізніх етапах (270–360-ї доби) спостерігається дифузне залучення паренхіми, що має схожу тенденцію з даними про експресію S100A9.

Хоча введення кверцетину не нівелювало імунну відповідь повністю, аналіз показників свідчить про певну модуляцію активності макрофагів. Зокрема, високі рівні CD163+ на пізніх етапах можуть трактуватися як підтримка захисного потенціалу печінки на фоні хімічної кастрації.

Публікації по темі дисертації

Статті в журналах:

1. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Vilkhova O. V., Skotarenko T. A. The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *World of Medicine and Biology*, 2021, №2(76), 238-242. *(Особистий внесок здобувача – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)* [184].

2. Rud, M. (2021). Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*, 21(2), 203-207. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.21.2.203>. *(Особистий внесок здобувача – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)* [185].

3. Rud MV, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Sydorenko AG, Voloshyna OV, Starchenko II, Nalyvaiko AO. Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of

luteinizing hormone synthesis on the 180th day. *World of Medicine and Biology*. – 2023 – Вип. 2 (84). – 229-33. *(Особистий внесок здобувача – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)* [187].

4. Rud M, Stetsuk Y, Shepitko V, Vilkhova O, Pelypenko L, Voloshyna O, Sydorenko A, Pavlenko H, Sharlai N, Sych O. Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. *Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal*. 2024 Nov. 28;20(7):511-6. Available from: <https://iej.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/1450> *(Особистий внесок здобувача – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)*. [188].

Тези доповідей:

1. Rud M, Stetsuk Y. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180. *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання); м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р; Полтава, 2023; с. 107–8. (Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [194].

2. Rud MV, Stetsuk YeV. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population. *Теорія та практика сучасної морфології» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р; Дніпро, 2023; с. 94–5. (Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [196].

3. Rud MV, Stetsuk YeV. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population. *Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з*

міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського; м. Київ, 8–9 червня 2023; Київ, 2023; с. 101–2. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на імунокомпетентні клітини печінки)* [195].

4. Rud MV, Stetsuk YeV, Vikhova OV. S100A9 protein as a marker of hepatic inflammatory processes under long-term inhibition of luteinizing hormone synthesis. *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції із міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання); м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р; Полтава, 2024; с. 118–20. (Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на експресію протеїну S100A9 та імунокомпетентні клітини печінки)* [197].

5. Рудь МВ, Стецук ЄВ, Вільхова ОВ, Волошина ОВ. Динаміка зміни експресії CD 68+ та CD 163+ макрофагів печінки на тлі тривалого пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів в експерименті. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини : матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. Учасцю; м. Полтава, 30–31 жовтня 2024 р; Полтава, 2024; с. 146–7. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на експресію CD 68+ та CD 163+ макрофагів печінки)* [198].

РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТНИХ РЕАКЦІЙ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ У НОРМІ ТА НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ

6.1. Результати обстеження рівня активності ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів у нормі, при блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та при введенні кверцетину.

По завершенню 30 - денної центральної депривації синтезу тестостерону в печінці щурів загальна активність NO-синтаз збільшується на 31,5 %, порівняно з контрольною групою тварин.

Активність iNOS за цих умов зростає на 32,8 %, тоді як активність cNOS істотно не змінюється. Концентрація нітритів зростає в 1,51 рази.

На 30-й день експериментального пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу у печінці щурів ЕГ 1 нами відмічено зниження активності ARG на 9 %. (Таб. 6.1).

Таблиця. 6.1

Активність ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів при пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону та одночасному введенні кверцетину на 30 добу експерименту ($M \pm m$).

Досліджувані параметри	Групи		
	Контроль n=5	Експериментальна група I, n=5	Експериментальна група II, n=5
Активність NO-синтаз, мкмоль/хв на г білка			
Загальна	1,27±0,09	1,67±0,09*	1,16±0,09**
Індуцибельна	1,22±0,09	1,62±0,09*	1,12±0,09**

Конститутивна	0,047±0,0004	0,046±0,0005	0,043±0,0011
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка	1,88±0,04	1,71±0,02*	1,97±0,07**
Концентрація нітритів, нмоль/г	4,99±0,28	7,54±0,31*	4,99±0,28**

Примітка: * - різниця є статистично значущою при порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$); ** - різниця є статистично значущою при порівнянні з експериментальною групою I ($p < 0,05$).

Введення кверцетину на тлі 30 - денної центральної депривації синтезу тестостерону призводить до зменшення загальної активності NO - синтаз на 30,5 %. Активність iNOS зменшується на 30,9 %, тоді як активність конститутивних ізоформ істотно не змінюється.

Кверцетин підвищує активність аргінази в печінці щурів на 15,2 % і зменшує концентрацію нітритів у 1,51 рази порівняно з дослідною групою.

По завершенню 90-ї доби експерименту у тканинах печінки тварин ЕГ 1 відмічалось зростання рівня загальної NO-синтази на 58,3 %. При цьому рівень індукцибельної NO-синтази зріс на 60,6 % (Таб. 6.2). Загальний рівень аргіназ зменшився на 37,7 %, у порівнянні з контрольною групою тварин. Концентрація нітритів у ЕГ 1 зросла на 46,09 %.

При дослідженні тканин печінки тварин ЕГ 2 на 90-й день експерименту було відмічено зростання рівня аргіназ, у порівнянні з ЕГ 1 на 22,2 % при $p < 0,05$ (Таб. 6.2).

Таблиця 6.2

Активність ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів при пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону та одночасному введенні кверцетину на 90 добу експерименту ($M \pm m$).

Досліджувані параметри	Групи		
	Контроль n=5	Експериментальна група I, n=5	Експериментальна група II, n=5
Активність NO-синтаз, мкмоль/хв на г білка			
Загальна	1,27±0,09	2,01±0,11*	1,45±0,08**
Індуцибельна	1,22±0,09	1,96±0,08*	1,41±0,09**
Конститутивна	0,047±0,0004	0,059±0,0005	0,042±0,001
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка	1,88±0,04	1,17±0,03*	1,43±0,06**
Концентрація нітритів, нмоль/г	4,99±0,28	7,29±0,32*	5,89±0,24**

Примітка: * – різниця є статистично значущою при порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$); ** – різниця є статистично значущою при порівнянні з експериментальною групою I ($p < 0,05$).

У тварин експериментальної групи I, при використанні триптореліну протягом 180 діб, у печінці збільшилася загальна активність NO-синтаз на 103,1% при порівнянні з контрольною групою (2.59 ± 0.066 проти 1.27 ± 0.093 ; $p < 0,05$) (Таб. 6.3). Активність iNOS за цих умов збільшилася на 106,5%, а активність cNOS статистично достовірно не змінилася. В експериментальній групі при центральному блокуванні синтезу ЛГ протягом 180 діб активність

ARG була знижена на 47% ($0,89 \pm 0,01$ проти $1,88 \pm 0,03$; $p < 0,05$) при порівнянні з групою контролю. Концентрація нітритів збільшилась на 46%.

Введення кверцетину на тлі пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 180 днів призводило до зниження загальної активності NO-синтаз на 70,4%. Активність iNOS зменшилася на 71,8%, а активність cNOS збільшилася на 48,27%. Також при цьому збільшилася активність ARG в печінці щурів на 61,8% та зросла концентрація нітритів на 37,6 % при порівнянні з експериментальною групою I.

Тобто на 180 добу експерименту відмічається перехід від дефіциту синтезу оксиду азоту в печінці щурів, який створював передумови для гіпоксичного ураження тканин печінки, до надмірної продукції оксиду азоту, який може призвести до утворення пероксинітриту та розвитку нітрозативного стресу, як результат.

Таблиця 6.3

Активність ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів при пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону та одночасному введенні кверцетину на 180 добу експерименту. ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Групи		
	Контроль, n=5	Експериментальна група 1, n=5	Експериментальна група 2, n=5
Активність NOS, мкмоль/хв на г білка			
Загальна	$1,27 \pm 0,093$	$2,59 \pm 0,066^*$	$0,79 \pm 0,036^*$
Індуцибельна	$1,22 \pm 0,09$	$2,53 \pm 0,072^*$	$0,71 \pm 0,035^*$

Конститутивна	0,047±0,0004	0,058±0,01	0,0865±0,002*
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка	1,88±0,04	0,89±0,011*	1,43±0,041*
Концентрація нитритів, нмоль/г	4,99±0,28	7,29±0,16*	10,03±0,21*

Примітка:* - різниця статистично достовірна при порівнянні з контрольною групою ($p < 0.05$)

При дослідженні рівня біохімічних показників двох експериментальних груп на 270 день експерименту ми виявили зміни в активності NO-синтаз (Табл. 6.4). Тривале введення триптореліну призводило до зростання активності gNOS на 51,97% та iNOS на 51,64%, порівняно з контрольною групою.

Активність cNOS також зростала на 76,6%. Активність ARG знижувалася на 37,23%. Концентрація нітритів у печінці щурів статистично достовірно не змінювалася.

Таблиця 6.4.

Активність ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів при пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону та одночасному введенні кверцетину на 270 добу експерименту ($M \pm m$).

Досліджувані параметри	Групи		
	Контроль, n=5	Експериментальна група 1, n=5	Експериментальна група 2, n=5
Активність NOS, мкмоль/хв на г білка			
Загальна	1,27±0,09	1,93±0,11*	0,65±0,11**

Індуцибельна	1,22±0,09	1,85±0,11*	0,61±0,11**
Конститутивна	0,047±0,0004	0,083±0,0003*	0,040±0,0004**
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка	1,88±0,04	1,18±0,05*	1,54±0,04**
Концентрація нитритів, нмоль/г	4,99±0,28	4,34±0,16	4,32±0,18

Примітка: * – різниця є статистично значущою при порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$); ** – різниця є статистично значущою при порівнянні з експериментальною групою I ($p < 0,05$).

Застосування кверцетину на тлі тривалого введення триптореліну протягом 270 днів призводило до зниження активності gNOS на 66,32% та iNOS на 67,03%, порівняно з контрольною групою. Активність cNOS також зменшувалася на 51,81%. При цьому також відмічалось зростання активності ARG на 30,51%. Концентрація нітритів у печінці шурів за цих умов статистично достовірно не змінювалася.

На 270 добу пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у функціонуванні циклу оксиду азоту продовжувала зберігатися тенденція, що була відмічена у попередній термін експерименту. Введення кверцетину позитивним чином впливає на відновлення функціонального стану аргіназ та NO-синтаз при його використанні на тлі введення триптореліну протягом 270-ти діб експерименту.

На 365-й день у експериментальній групі I активність iNOS у тканинах печінки була знижена на 8,2% порівняно з контрольною групою ($1,12 \pm 0,07$ проти $1,22 \pm 0,09$; $p < 0,05$). У експериментальній групі I по завершенню 365-ї доби активність ARG була на 24% нижчою ($1,43 \pm 0,03$ проти $1,88 \pm 0,03$; $p < 0,05$), при порівнянні з контрольною групою тварин (Таб. 6.5).

У експериментальній групі II на 365-ту добу загальна активність NO-синтаз була значно зменшена у порівнянні з контрольною групою та експериментальною групою I: на 61,42 % та 57,76 %, відповідно.

Таблиця 6.5

Активність ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів при пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону та одночасному введенні кверцетину на 365 добу експерименту (M±m).

Досліджувані параметри	Групи		
	Контроль, n=5	Експериментальна група 1, n=5	Експериментальна група 2, n=5
Активність NOS, мкмоль/хв на г білка			
Загальна	1,27±0,09	1,16±0,07	0,49±0,02* **
Індуцибельна	1,22±0,09	1,12±0,07	0,46±0,02* **
Конститутивна	0,047±0,0004	0,046±0,0006	0,030±0,0001* **
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка	1,88±0,04	1,43±0,03	2,12±0,04*
Концентрація нитритів, нмоль/г	4,99±0,28	7,53±0,53*	8,81±0,21

Примітка: * – різниця є статистично значущою при порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$); ** – різниця є статистично значущою при порівнянні з експериментальною групою I ($p < 0,05$).

6.2. Резюме:

1. При долідженні нами змін NO_2 в двох експериментальних групах тварин встановлено, що на початковий етап (1-й місяць) обидві групи демонструють різке зростання показників порівняно з контрольною групою.

2. Середньостроковий етап (3–6 місяців) показує, що показники NO_2 у ЕГ1 залишаються стабільними, тоді як у ЕГ2 спостерігається суттєвий спад

3. Вплив триптореліну викликає суттєве зниження рівня ARG, яке досягає свого мінімуму на 6-й місяць. Це свідчить про значне пригнічення ферментативної активності під дією препарату. До 12-го місяця показник поступово повертається до значень, близьких до контрольних

4. Кверцетин ефективно впливав на надмірну продукцію оксиду азоту у тканинах печінки щурів, що спостерігалось з 1 місяця експерименту та попереджував розвиток нітрозативних уражень печінки на всіх термінах експерименту, порівняно із показниками групи введення триптореліну.

Публікації по темі дисертації

Статті в журналах:

1. Rud, M., Shepitko, V., Stetsuk, Y., & Akimov, O. (2022). The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*, 26(1-2), 22-25. <https://doi.org/10.31718/mep.2022.26.1-2.06>. *(Особистий внесок здобувача – отримання результатів експериментальних досліджень, проведення статистичної обробки та аналізу, підготовка рукопису статті)*[186].

Тези доповідей:

1. Рудь МВ, Шепітько ВІ. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження. Сучасні проблеми вивчення

медико-екологічних аспектів здоров'я людини : матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р; Полтава, 2021; с. 80–1. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на ферментні реакції циклу азоту у тканинах печінки)*[190].

2. Rud MV, Shepitko V I, Skotarenko TA, Polyviana OA. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва; м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р; Полтава, 2022; с. 57–8. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на ферментні реакції циклу азоту у тканинах печінки)*[192].

3. Rud MV, Stetsuk YeV, Shepitko VI, Vilhova OV. The influence of quercetin on biochemical changes in rat liver tissue on the background of central deprivation of luteinizing hormone synthesis. Abstract book of the 22nd EAA Congress. 15th ISGA Congress 5th International Conference of Evolutionary Medicine; Vilnius, Lithuania, August 24–27, 2022; Vilnius, 2022; P. 199. *(Здобувачці належать результати щодо впливу блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та введення кверцетину на ферментні реакції циклу азоту у тканинах печінки)* [193].

РОЗДІЛ 7.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На *першому етапі* нашого дослідження ми з'ясували клітинний склад імунокомпетентних клітин печінки при введенні триптореліну та додаванні кверцетину в порівнянні з контрольною групою тварин. Розділ 3 та 4 і був присвячений кількісному складу клітин Іто, лімфоцитів та КК печінки.

На рис.7.1 демонструється довгостроковий річний моніторинг кількості клітин Іто в печінці в групах при патологічному впливі триптореліну (Тр) та за умов введення коригуючого чинника (Тр+К) кверцетину.

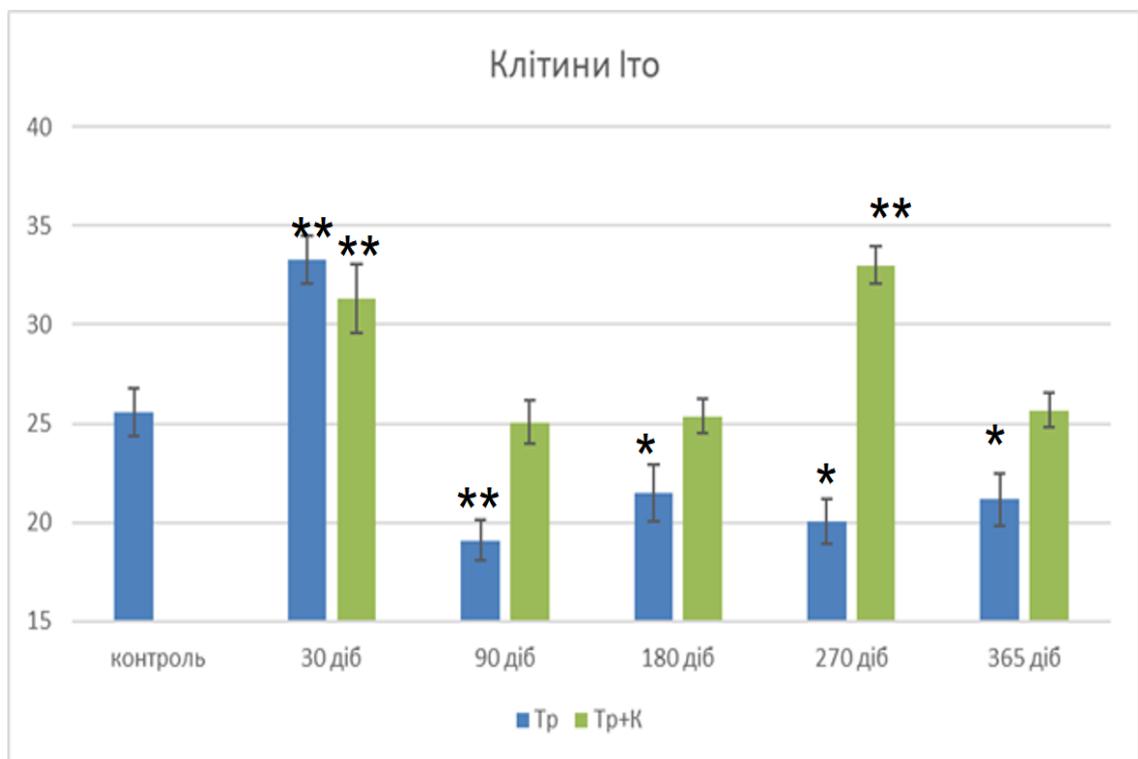


Рис. 7.1. Динаміка показника кількості клітин Іто печінки в полі зору при введенні триптореліну (Тр) та з додаванням кверцетину (Тр +К). * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

При порівнянні двох експериментальних груп, нами було встановлено, що *початкова фаза (30 днів)* це була стадія гострої реакції тканин печінки на введення подразнюючого чинника і характеризувалась різким зростанням

кількості клітин (у групі Тр — на 32% вище контролю). Це свідчить про активну проліферацію клітин Іто у відповідь на первинне пошкодження тканини. У цей період клітини зазвичай активуються, втрачають запаси ретиноїдів і починають синтезувати компоненти міжклітинного матриксу. У групі з корекцією (Тр+К) цей підйом є дещо стриманішим, що може вказувати на менш виражену запальну реакцію.

Проміжна фаза (90–180 діб): Стадія депресії та адаптації – це критичний період, де траєкторії груп суттєво розходяться, показник стрімко падає нижче значень контролю (до ~19 на 90-ту добу) без корекції. Це може бути ознакою виснаження клітинного резерву або масової трансформації клітин Іто у зрілі міофібробласти, які часто не враховуються як типові зірчасті клітини при підрахунку. У групі з корекцією - кількість клітин також знижується порівняно з 30-ю добою, але стабілізується на рівні фізіологічної норми (контролю). Коригуючий вплив кверцетину, імовірно, запобігає надмірній активації або загибелі клітин, підтримуючи гомеостаз печінки.

Пізня фаза (270–365 діб): Регенераторний сплеск та фіналізація процесу. Найцікавіша динаміка спостерігається наприкінці року: група Тр залишається на низькому рівні (близько 20-21 клітин); хронічне пригнічення популяції клітин Іто в цій групі свідчить про стійке порушення структури печінки та відсутність адекватної регенерації. Група Тр+К: на 270-ту добу фіксується другий пік активності (показник знову зростає до рівня 33); може бути ознакою «другої хвилі» регенерації або компенсаторної реакції організму. До кінця року група Тр+К демонструє повернення до показників контрольної групи, що інтерпретується як повна стабілізація та нормалізація процесу.

Використання кверцетину не просто змінює кількість клітин, а змінює саму стратегію виживання тканини. У той час як без корекції система «виснажується» вже до третього місяця, додавання коректора дозволяє печінці пройти через цикли активації та, зрештою, повернутися до регенераторного морфофункціонального стану.

Динаміка групи Тр свідчить про наявність вираженого фазного процесу з несприятливим прогнозом. Перша фаза – швидке зростання кількості клітин є маркером гострої відповіді на пошкодження. Це вказує на масову активацію клітин Іто, що є патогенетичною основою для початку надмірного фіброгенезу. Фаза депресії та виснаження (90–365-а доби) – стійке зниження кількості клітин нижче рівня контролю ($p < 0,05$) вказує на нездатність системи самовідновлюватися. Ймовірно, відбувається переродження зірчастих клітин у міофібробласти, що втрачають здатність до накопичення вітаміну А, або їх апоптоз внаслідок тривалого токсичного чи метаболічного стресу.

Виявлений на 270-ту добу підйом чисельності клітин Іто в групі Тр+К при $p < 0,01$, порівняно з групою Тр, свідчить про ініціацію процесів резолюції фіброзу. На відміну від групи без корекції, де спостерігається стагнація клітинної популяції, введення кверцетину сприяє відновленню морфологічного резерву печінки. Це підтверджує гіпотезу про деактивацію міофібробластів [23, 26] та їх реверсію до вихідного фенотипу клітин Іто, що є необхідною умовою для відновлення архітектоніки печінкових часточок.

Нами вперше встановлено, що застосування корекції (К - кверцетин) запобігає тривалому дефіциту клітин Іто, який спостерігається при ізольованому впливі триптореліну. Це свідчить про збереження вітамін-депонууючої функції печінки та обмеження процесів хронізації пошкодження.

Другим кількісним показником досліджуваних непаренхіматозних клітин печінки були лімфоцити. Ми вираховували загальну кількість клітин, без розподілу за функцією та морфологією (малі, середні, великі).

Як відомо, печінка є імунологічно активним органом, де лімфоцити виконують роль «диригентів» регенерації [17, 18].

Наведений рис. 7.2 описує два діаметрально протилежні сценарії розвитку імунної відповіді при введенні триптореліну та в групі з додаванням кверцетину.

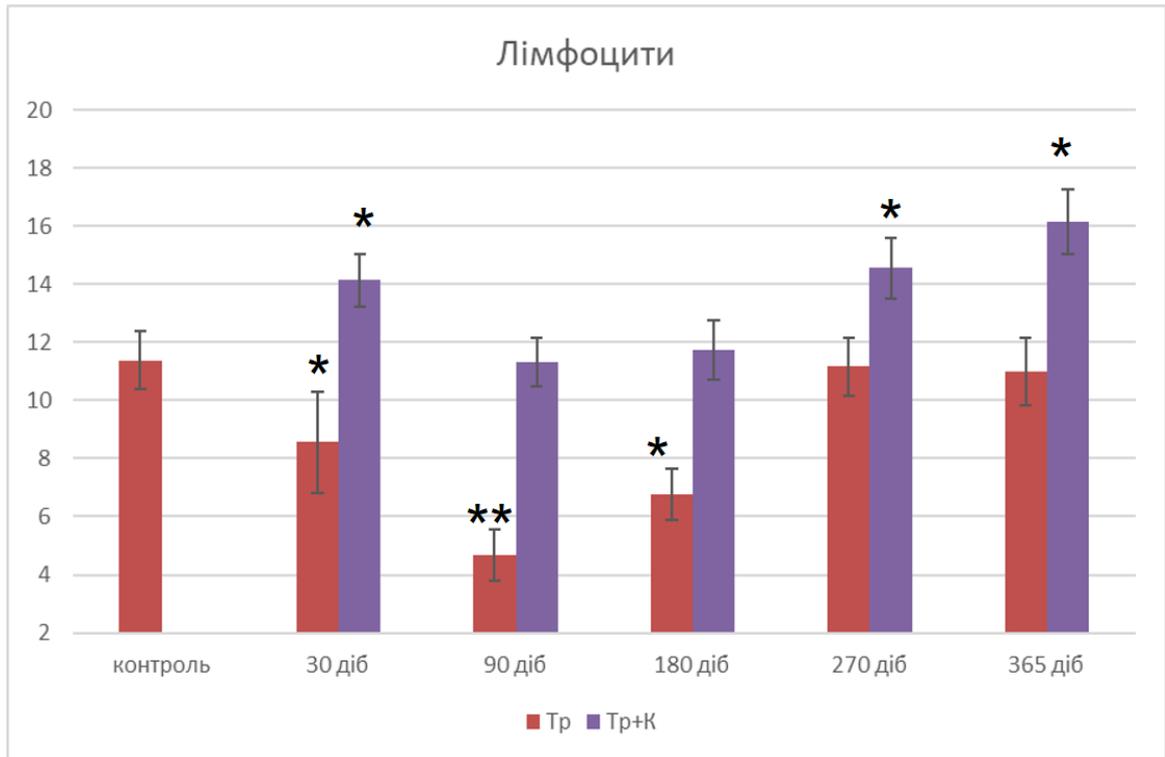


Рис. 7.2. Динаміка показника кількості лімфоцитів печінки в полі зору при введенні триптореліну (Tr) та з додаванням кверцетину (Tr +К). * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

У групі при введенні триптореліну спостерігається картина, характерна для хронічного токсичного або метаболічного пошкодження, що супроводжується вторинним імунодефіцитним станом, який описаний в літературі [27, 28].

Так, ми виділили дві фази змін, перша - імуносупресії (30–180 діб). Кількість лімфоцитів стабільно перебуває нижче рівня контролю. Критична точка припадає на 90-ту добу (зниження у 2,5 рази порівняно з контролем). На нашу думку, це може бути наслідком прямої цитотоксичної дії чинника триптореліну на лімфоїдну тканину або результатом «виснаження» лімфоцитів у спробах обмежити вогнище запалення. «Брак» лімфоцитів у цей період пояснює низьку кількість клітин Іто (з попереднього графіка), оскільки відсутні цитокінові сигнали для їх активації та проліферації. Друга фаза - пізньої нормалізації (270–365-а доби), тільки до кінця року показники повертаються до

значень контролю. Це свідчить про дуже повільну саморегенерацію імунної системи органа, яка відбувається вже після стабілізації основних патологічних процесів.

У групі Тр+К (Рис.7.2) додавання кверцетину радикально змінює імунну стратегію організму – рання імуномодуляція (30 діб). На відміну від групи Тр, тут ми бачимо негайне зростання кількості лімфоцитів (на 20% вище контролю). Це свідчить про готовність імунної системи до активної реакції у відповідь на пошкодження. Далі етап підтримання гомеостазу (90–180 діб), коли група Тр перебуває у глибокому «провалі», група з корекцією утримує рівень лімфоцитів на рівні фізіологічної норми. Кверцетин виступає як імунопротектор, не дозволяючи патологічному процесу виснажити захисні сили печінки. І фаза гіперкомпенсації (270–365-а доби) – на пізніх етапах експерименту спостерігається виражений лімфоцитоз. Це не обов'язково має свідчити про запалення. У контексті відновлення печінки – це формування потужного імунного бар'єру та підтримка метаболічних процесів. Висока щільність лімфоцитів на 270-ту добу корелює з піком клітин Іто (Рис.7.1), що підтверджує їхню синергічну роль у відбудові тканини.

Проведений порівняльний аналіз виявив, що за умов ізольованого впливу триптореліну розвивається стійкий дефіцит лімфоцитів у тканинах органа, який сягає свого максимуму на 90-ту добу експерименту. Така динаміка свідчить про пригнічення ефекторної ланки імунітету печінки, що, своєю чергою, детермінує низьку регенераторну активність клітин Іто. На противагу цьому, застосування кверцетину забезпечує стабільний рівень лімфоцитарної інфільтрації з формуванням фази фізіологічного збільшення лімфоцитів у тканинах печінки на пізніх етапах. Це вказує на імуномодулюючий ефект корекції, який полягає у запобіганні імуносупресії та створенні сприятливих умов для структурно-функціональної реабілітації печінки до кінця спостереження.

Наступною дослідною групою клітин ми обрали макрофаги печінки. Макрофаги печінки, або клітини Купфера є першою лінією захисту. Вони

ініціюють запалення та координують подальше відновлення або фіброз тканини [40, 44].

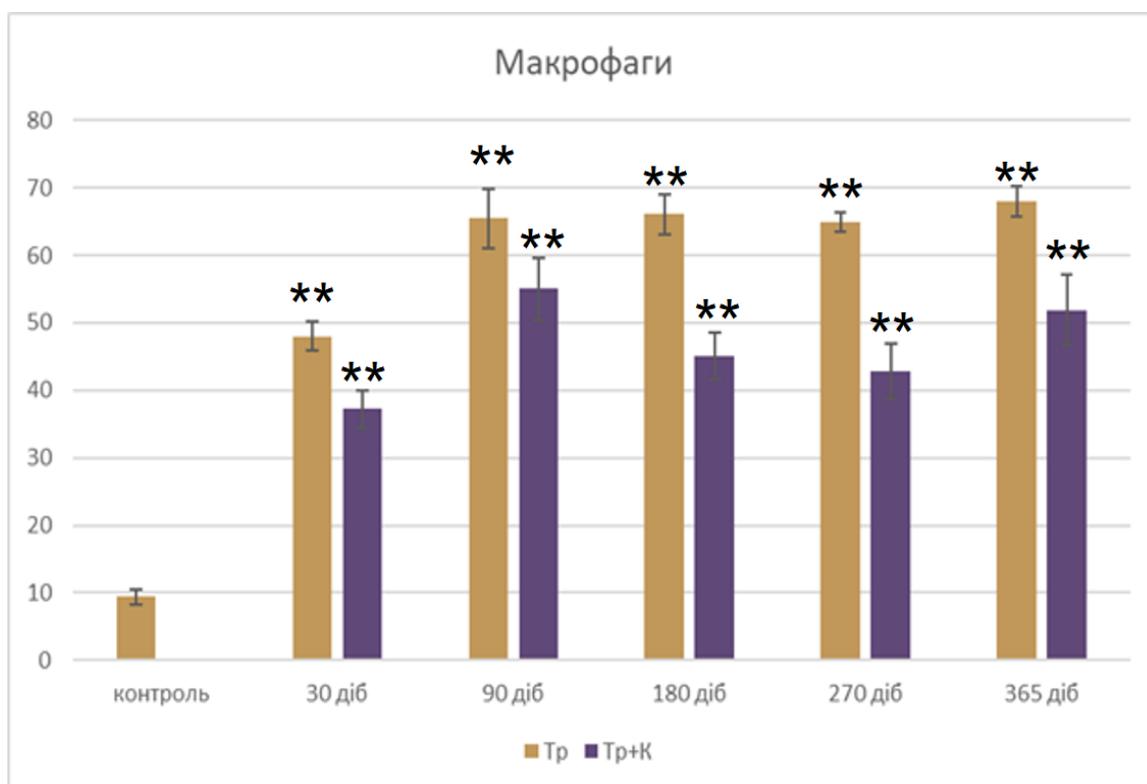


Рис. 7.3. Динаміка показника кількості макрофагів печінки в полі зору при введенні триптореліну (Tr) та з додаванням кверцетину (Tr +К). * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

При дослідженні нами контрольної групи тварин, встановлено, що рівень макрофагів дуже низький – приблизно 9,5, що відповідає нормальному фізіологічному стану спокою органа [37], описаному в літературі.

Експериментальна група Tr демонструє стрімку та масивну інфільтрацію органа макрофагами, що свідчить про інтенсивне хронічне запалення – кількість макрофагів сягає піку після 90-ї доби, тоді як кількість лімфоцитів на цьому етапі – мінімуму (Рис. 7.2). Це свідчить про гіперактивацію вродженого імунітету (неспецифічне запалення) на фоні глибокої депресії адаптивного імунітету. Така ситуація є класичною для розвитку цирозу та фіброзу [53, 54],

оскільки макрофаги постійно пошкоджують тканину, а лімфоцити не можуть скоординувати регенерацію тканин печінки.

Група Тр+К показує значно стриманішу реакцію, хоча рівень вищий за контроль, він суттєво менший, ніж у групі Тр. Динаміка макрофагальної реакції в групі Тр свідчить про розвиток неконтрольованого хронічного запалення, що характеризується семикратним перевищенням контрольних значень на 365-у добу експерименту. На фоні виявленої раніше лімфоцитопенії, це вказує на виснаження імунологічних ресурсів печінки.

Застосування кверцетину в групі (Тр+К) дозволяє достовірно ($p < 0,05$) знизити рівень макрофагальної інфільтрації на всіх етапах дослідження. Особливо показовим є період 180–270 діб, коли кількість макрофагів у групі з корекцією стабілізується на рівні 43,0–45,0 одиниць, що свідчить про перехід патологічного процесу у фазу ремісії та формування адекватної імунної відповіді без надмірної альтерації тканини.

Аналіз сукупної динаміки клітин Іто, лімфоцитів та макрофагів дозволяє стверджувати, що патологічний процес без корекції (Тр) веде до формування замкненого кола: хронічне запалення (макрофагоцитоз), імуносупресія (лімфоцитопенія), виснаження регенераторного пулу, яке результується дефіцитом клітин Іто.

Застосування кверцетину, як препарату корекції (Тр+К) розриває цей ланцюг, трансформуючи імунну відповідь за регенераторним типом. Це проявляється у помірній макрофагальній реакції, стабільно високому рівні лімфоцитів та повноцінному відновленні популяції клітин Іто, що, в сукупності, сприяє розвитку морфофункціональної регенерації печінки до 365-ї доби спостереження.

Другим етапом нашого дослідження було вивчення розповсюдженості білка S100A9 в тканинах печінки при введенні триптореліну та корекції цього стану кверцетином (Розділ.5.1).

Білок S100A9 (також відомий як MRP14 або кальгранулін В) — це надзвичайно важливий учасник реакцій імунної системи, "сигналізатор тривоги", або ж алармін, який клітини організму вивільняють у відповідь на запалення або пошкодження [114, 115].

S100A9 належить до родини S100-білків, які мають здатність зв'язувати іони кальцію Ca^{2+} . Разом із білком-партнером S100A8 вони утворюють комплекс, який називається кальпротектин. Локалізація цієї сполуки переважно в цитоплазмі нейтрофілів та моноцитів, що визначило її вибір, як маркера, задля визначення розповсюдженості процесу запалення [116, 117].

Основна функція S100A9 – виконання ролі DAMP (Damage-Associated Molecular Pattern) – молекули, яка стимулює викид цитокінів, що в свою чергу посилює імунну відповідь. Виражена антимикробна активність – "створює дефіцит металів (цинк, марганець), необхідних бактеріям, фактично зменшуючи джерела для їхнього живлення та функціонування; сприяє хемотаксису лейкоцитів; бере участь у інтрацелюлярній трансдукції сигналів впливаючи на зміну концентрації Ca^{2+} [118, 119].

Досліджуючи патогенез змін, викликаних хімічною кастрацією триптореліном, ми виявили етап гіпермакрофагального стану тканин печінки (Рис. 7.3), тому вирішили з'ясувати ступінь їх інфільтрації протеїном S100A9 на різних етапах експерименту, оскільки відомо, що локалізація цього білка у міжклітинному просторі сигналізує про ініціацію запальної відповіді.

Виявлена нами стадійність експресії S100A9 ідеально корелює з раніше проаналізованими Рис. 7.1, 7.2, 7.3. На 30-ту добу (початкова мобілізація) експресія обмежена цитоплазмою нейтрофілів та моноцитів. Це збігається з фазою «гострої реакції», де ми спостерігали первинний сплеск кількості клітин Іто (Рис. 7.1) та макрофагів (Рис. 7.3). S100A9 на цьому етапі діє як ініціатор запального сигналу.

90-а доба (критична фаза) – поширення експресії на клітини Купфера та клітини Іто. Це пояснює "кризу" 90-ї доби: висока концентрація S100A9 у

клітинах Іто пригнічує їхню регенераторну функцію, що на графіках відображалося як різке падіння їх кількості у групі Тр. Одночасно це корелює з піком активованих макрофагів CD68+.

180–270-а доби (формування хронічного ураження): поява позаклітинної експресії та залучення простору Діссе. Це свідчить про глибоке ремоделювання матриксу. У групі Тр+К ми спостерігали в цей період зниження CD68+ та пік CD163+, що, ймовірно, пов'язано зі здатністю кверцетину блокувати вихід S100A9 у позаклітинний простір, дозволяючи клітинам Іто розпочати «другу хвилю» регенерації на 270-ту добу.

270–365-а доби (тотальна експресія) – у групі Тр спостерігається тотальна експресія S100A9 із залученням гепатоцитів. Це фінальна стадія, де паренхіма повністю охоплена запаленням, що підтверджується стабільно високим рівнем макрофагів (Рис.7.3) та дефіцитом клітин Іто (Рис.7.1).

Патогенетична роль S100A9 у нашій моделі експерименту. Додавання S100A9 дозволяє пояснити механізм дії триптореліну та кверцетину: група Тр запускає каскад вивільнення алармінів; S100A9 стимулює макрофаги до прозапальної активації (M1), що створює цитокіновий тиск на клітини Іто, змушуючи їх трансформуватися у міофібробласти або гинути.

Додаткове введення кверцетину у групі Тр+К, ймовірно, виступає як інгібітор S100A9-залежних шляхів. Це дозволяє макрофагам швидше перемикатися на відновлювальний фенотип (M2). Зниження позаклітинного депонування S100A9 звільняє простір Діссе для нормального функціонування клітин Іто, що ми спостерігаємо як повернення їх значень до показників групи контролю на 365-ту добу.

Із вище перерахованого, нами встановлено тенденцію між інтенсивністю експресії S100A9 та рівнем макрофагальної інфільтрації. Тотальна екстрацелюлярна експресія кальгрануліну В на пізніх етапах (270–365-а доби) є морфологічним підґрунтям для виснаження регенераторного пулу клітин Іто та пригнічення лімфоцитарної відповіді. Навпаки, обмеження експресії S100A9 та її внутрішньоклітинна локалізація при введенні кверцетину сприяє розвитку

регенерації на 270-ту добу, забезпечуючи морфофункціональну стабілізацію печінки.

Третім етапом нашого дослідження було встановлення фенотипу макрофагів під час поляризації (M1/M2) за експресією маркера – CD 68⁺ (M1) та CD 163⁺ (M2) та ступеня його розповсюдженості (Розділ 5.2).

Аналіз експресії CD 68⁺ (M1 прозапальні макрофаги). На відміну від загальної кількості макрофагів, маркер CD 68⁺ вказує саме на їхню здатність до фагоцитозу та секреції прозапальних цитокінів. Група Тр демонструє прогресуюче зростання активованих макрофагів, яке виходить на плато після 270-ї доби (рівень у 7,5 рази вищий за показники контрольної групи). Це свідчить про неконтрольоване хронічне запалення паренхіми печінки.

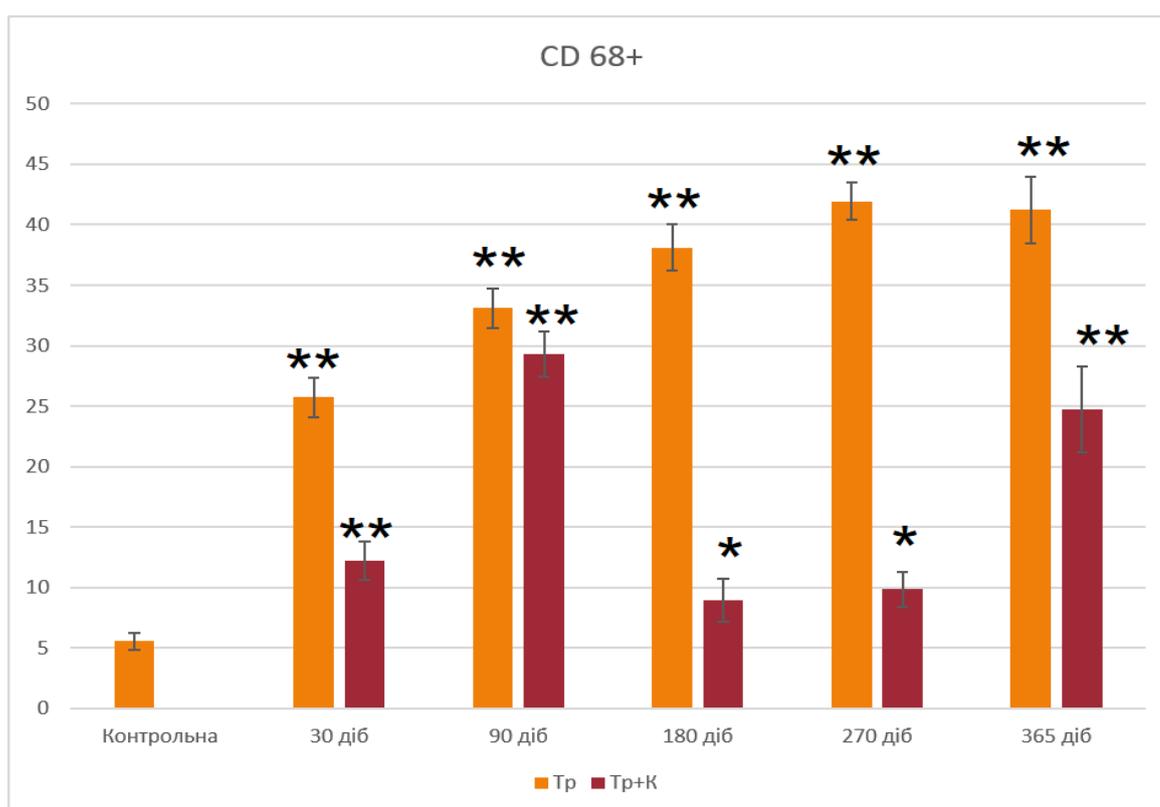


Рис. 7.4. Динаміка експресії показника CD 68⁺ макрофагів печінки в полі зору при введенні триптореліну (Tr) та з додаванням кверцетину (Tr +К). * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Група Тр+К навпаки, показує унікальний "провал" активності на 180–270-ту добу. Це свідчить про те, що корекція не просто зменшує кількість клітин, а вимикає їхню агресивну функцію, переводячи орган у стабільний стан (ремісію).

На нашу думку, об'єднання даних по клітинах Іто, лімфоцитах, макрофагах та CD68+ дає повну картину, а саме сценарій прогресуючого пошкодження у групі Тр – постійний ріст CD68+ та прозапальних макрофагів створює умови для "цитокінового шторму", який пригнічує лімфоцити (Рис.7.2) (адаптивний імунітет). Внаслідок цього клітини Іто не можуть забезпечити регенерацію, що веде до деградації тканини (Рис. 7.1).

І навпаки, сценарій керованої регенерації при введенні кверцетину (Тр+К): фаза 1 (30–90 діб) – корекція стримує активацію макрофагів (CD68+); фаза 2 (180–270 діб) – відбувається глибока супресія прозапальних макрофагів. Це відкриває "вікно можливостей" для клітин Іто, які саме в цей момент (270 доба) демонструють пік проліферації для відбудови печінки; фаза 3 (365-а доба) – орган повертається до нормальних показників за кількістю клітин Іто та лімфоцитів, зберігаючи лише помірний імунний нагляд.

На Рисунку 7.5 представлено стовпчикову діаграму, яка відображає динаміку показника CD 163+ (маркер макрофагів 2-го фенотипу) в обох групах дослідження протягом 365 діб.

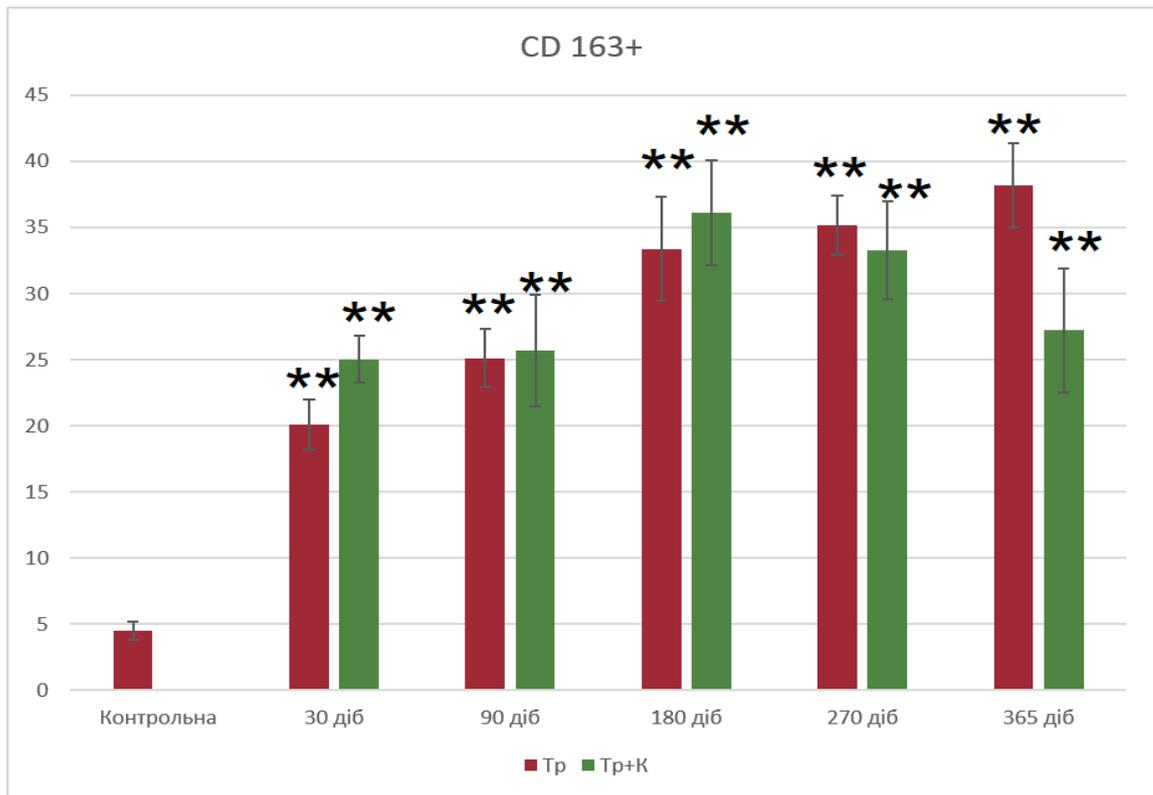


Рис. 7.5. Динаміка експресії показника CD 163+ макрофагів печінки в полі зору при введенні триптореліну (Tr) та з додаванням кверцетину (Tr +K). * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Порівняно з контролем обидві групи (Tr та Tr+K) демонструють стрімке зростання рівня CD 163+ вже з 30-ї доби. Динаміка групи Tr показує стабільне зростання протягом усього періоду. Пікове значення було відмічено на 365-у добу. Динаміка групи (Tr+K) – до 180-ї доби показники зростають і навіть дещо перевищують групу Tr. Переломний момент виникає після 180-ї доби – спостерігається зниження показника. На 365-у добу рівень CD 163+ у цій групі значно нижчий, ніж у групі без корекції (близько 27 одиниць проти 38).

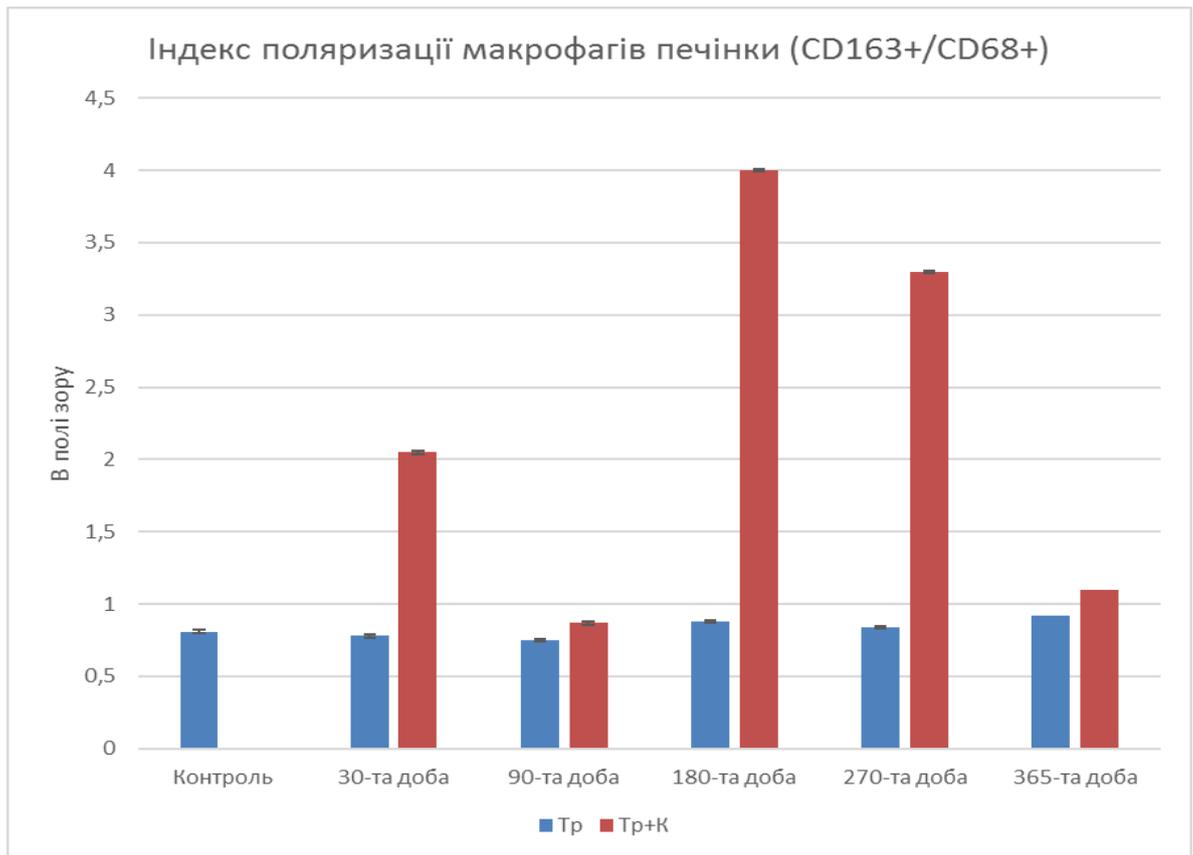


Рис. 7.6. Динаміка змін індексу поляризації CD163+/ CD68+ макрофагів печінки в полі зору при введенні триптореліну (Tr) та з додаванням кверцетину (Tr +K). * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Фаза А: Блокування деструкції (30–90 діб)

У групі Tr низька кількість лімфоцитів та високий рівень експресії CD68+ призводять до того, що клітини Іто різко зменшуються в кількості, не витримуючи запального пресингу. У групі Tr+K корекція вже на 30-ту добу забезпечує високий індекс поляризації (2,00), що готує орган до подальшої регенерації.

Фаза Б: "Регенераторне вікно" (180–270 діб)

У групі Tr+K на 180-ту добу фіксується унікальний стан — мінімум прозапальних CD 68+ при максимумі протизапальних CD 163+. Індекс поляризації сягає 4,00. Це ідеальне мікрооточення дозволяє лімфоцитам активувати другу хвилю проліферації клітин Іто на 270-ту добу (пік 33,0). У

групі Тр у цей час запалення залишається хронічним (CD68+ >40), а регенерація — пригніченою.

Фаза В: Фізіологічна стабілізація (365-а доба)

До кінця року група Тр+К демонструє повернення клітин Іто до значень контролю. Максимальна кількість лімфоцитів у цей період (16,0) свідчить про сформований імунний захист, який запобігає прогресуванню фіброзу.

Тобто, механізм дії корекції кверцетину базується на формуванні часового регенераторного вікна на 180-270-у добу експерименту. Це вікно характеризується чотирикратним переважанням макрофагів фенотипу М2 (CD163+) над фенотипом М1 (CD68+). Саме такий імунологічний фон є критичною умовою для повторної активації клітин Іто, що сприяє структурно-функціональній регенерації печінки до 365-ї доби, на відміну від групи ізольованого впливу Тр, де розвивається некероване хронічне запалення та дефіцит регенераторного пулу клітин.

П'ятий етап – виявлення маркерів нітрозативного стресу в печінці.

Оксидативно-нітрозативний стрес, викликаний дефіцитом тестостерону, є важливою патогенною ланкою у пошкодженні органів і тканин [1]. Застосування препаратів з потужним антиоксидантним ефектом може стати перспективним методом патогенетичної терапії та запобігання змінам в організмі, викликаних дефіцитом тестостерону.

Флавоноїд кверцетин має капілярно-стабілізуючі властивості, пов'язані з антиоксидантною, мембраностабілізуючою, а також протизапальною дією, блокуючи ліпоксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти, зменшуючи синтез лейкотрієнів, серотоніну та інших медіаторів [176].

Тестостерон може позитивно модулювати діяльність ендотеліальної та нейрональної NO - синтаз; тому дефіцит тестостерону може зменшити їх активність. Центральна 30 - денна депривація синтезу тестостерону призводить до зсуву у функціонуванні ферментів циклу оксиду азоту в печінці щурів у бік переважання активності iNOS.

До фізіологічного ефекту тестостерону належить збільшення виробництва оксиду азоту (NO) з ендотеліальної ізоформи NO-синтази; проте оксидативно-нітрозативний стрес, в умовах дефіциту тестостерону може призвести до активації індукованої ізоформи NO-синтази, що, в свою чергу, може викликати утворення пероксинітриту [10].

Під контролем тестостерону пригнічується поляризація макрофагів у напрямку прозапального фенотипу (M1), що призводить до зниження продукції таких цитокінів, як інтерлейкін 1 β (IL-1 β) та інтерлейкін 6 (IL-6). Роль індукційної NO-синтази (iNOS), що експресується макрофагами, є критично важливою для балансу між підтипами M1 і M2, оскільки iNOS регулює експресію сигнатурних генів у макрофагах M1 і регулює вивільнення прозапальних цитокінів.

Патогенез змін імунокомпетентних клітин печінки щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном зображений на Рис. 7.7.

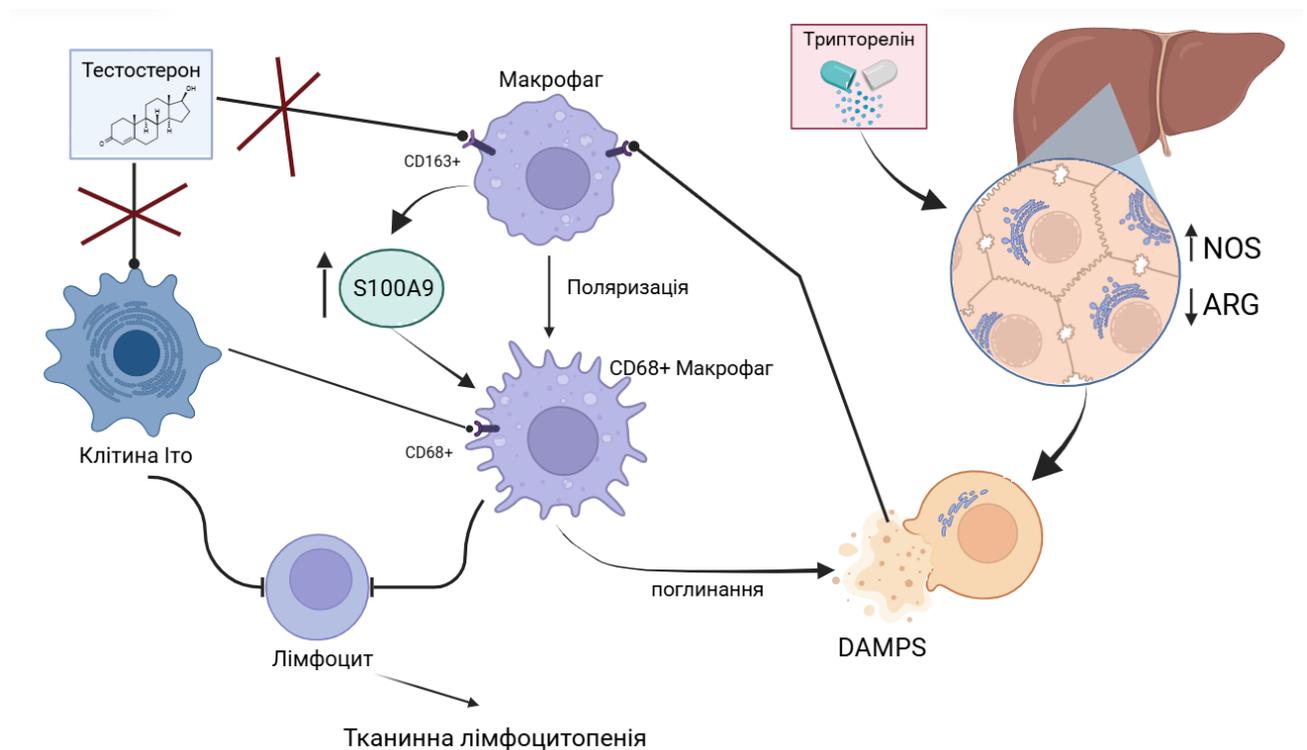


Рис. 7.7. Патогенетична схема розвитку змін в імунокомпетентних клітинах печінки за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (пояснення в тексті).

Механізм впливу кверцетину на зміни в імунокомпетентних клітинах печінки щурів за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону введенням триптореліну зображений на Рис. 7.8.

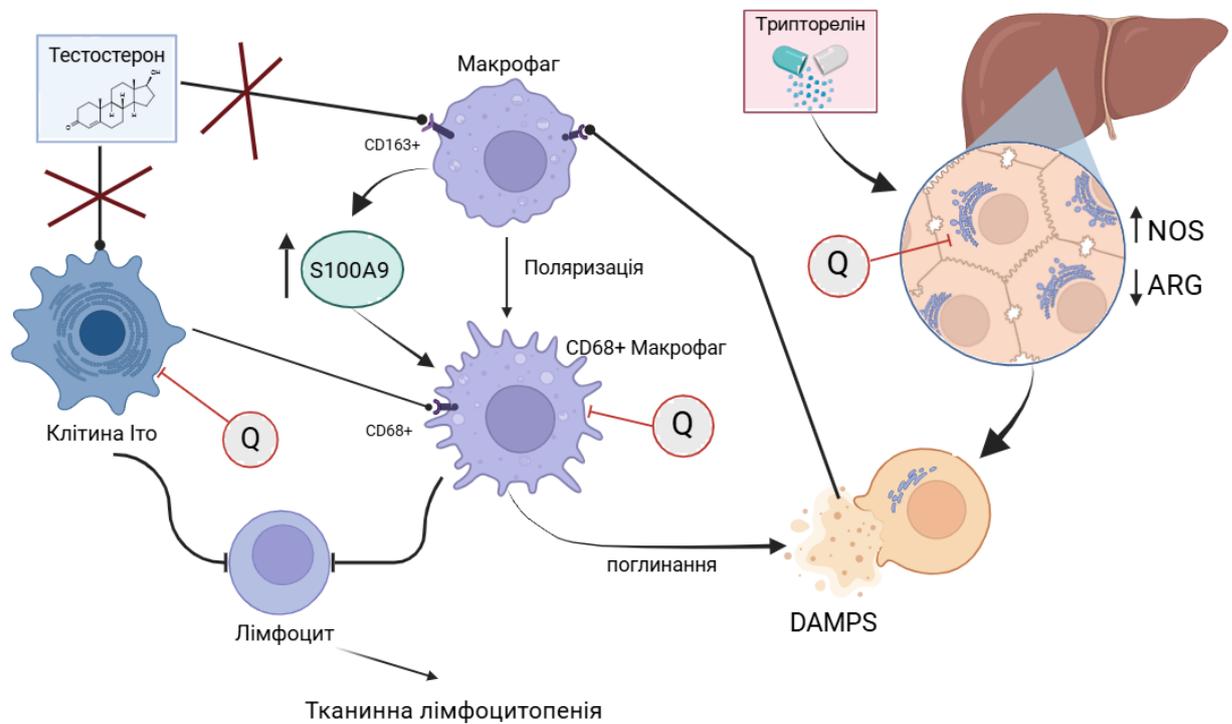


Рис. 7.8. Схема впливу кверцетину на імунокомпетентні клітини печінки за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (пояснення в тексті). Примітка: Q – кверцетин.

ВИСНОВКИ:

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі – комплексного дослідження динаміки структурно-функціональних змін імунокомпетентних клітин печінки щурів при експериментальному пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у поєднанні з введенням кверцетину.

1. Тривале застосування триптореліну зумовлює стадійну перебудову клітинного складу непаренхімного апарату печінки, яка характеризується вираженою активацією макрофагальної ланки на тлі фазних коливань чисельності клітин Іто та лімфоцитів. Динаміка лімфоцитів демонструє виражену депресію в середньостроковому періоді: найглибший спад фіксується на 90-ту добу (зниження на 59%, при $p < 0,01$), що може бути наслідком системного гормонального стресу. До 270–365-а доби спостерігається повна нормалізація чисельності лімфоцитів, до рівня показників контрольної групи, що вказує на адаптацію імунної системи до умов тривалого введення триптореліну.

Чисельність клітин Іто стабілізується на рівні, що на 16–25% нижче за контрольні показники. Одночасне зменшення кількості ліпідних гранул (особливо помітне на 180-ту добу) може свідчити про ознаки часткової активації клітин Іто та трансформацію в міофібробластоподібні клітини, що є ключовою ланкою в ініціації фіброгенезу.

Чисельність макрофагів зростає (на 30-ту добу їх на 408% більше, у порівнянні з групою контролю), сягаючи максимуму до 365-ї доби (зростання у 7,2 рази порівняно з контролем). Таке зростання кількості клітин свідчить про розвиток хронічного імунного запалення та активацію системи мононуклеарних фагоцитів, у відповідь на центральну депривацію синтезу тестостерону.

2. Динаміка змін клітинного складу печінки, за умов введення триптореліну та корекції кверцетином, дозволяє сформулювати цілісну концепцію структурно-функціональної відповіді органа. Домінуюча роль

макрофагальної ланки виявляється в персистуючому зростанні популяції макрофагів. Кількість клітин Купфера залишається достовірно високою протягом усього експерименту, досягаючи пікових значень на 90-ту добу (+482% до контролю) та зберігаючи високу щільність на 365-ту добу. Це свідчить про те, що макрофаги є основним ефекторним елементом, який забезпечує тривалий імунний нагляд та ремоделювання тканини в умовах хронічного впливу триптореліну.

Клітини Іто та лімфоцити, на відміну від макрофагів, реагують хвилеподібно, із чітко вираженим двофазним характером цієї реакції. Перша хвиля (30-та доба) - гостра адаптивна відповідь на введення препаратів. Фаза стабілізації (90–180-ті доби) - тимчасова нормалізація показників, що інтерпретується як протективний ефект кверцетину та включення компенсаторних механізмів. Друга хвиля (270–365 діб) - повторна активація стромальних клітин та вихід лімфоцитів на максимальні значення ($16,16 \pm 1,1328$ в полі зору при $p < 0,01$), що вказує на перехід процесу у фазу стабільної хронізації з переважанням клітинного імунітету.

3. При довготривалому введенні триптореліну встановлено тенденцію, щодо залежності між інтенсивністю експресії S100A9 та рівнем макрофагальної інфільтрації. Тотальна екстрацелюлярна експресія кальгрануліну В на пізніх етапах (270–365-та доби) є морфологічним підґрунтям для виснаження регенераторного пулу клітин Іто та пригнічення лімфоцитарної відповіді. Навпаки, обмеження експресії S100A9 та її внутрішньоклітинна локалізація при введенні кверцетину сприяє ініціації "регенераторного вікна" на 270-ту добу, забезпечуючи морфофункціональну стабілізацію печінки, завдяки введенню кверцетину.

4. Механізм корегувального ефекту кверцетину базується на формуванні часового регенераторного вікна на 180-270 добу експерименту. Це вікно характеризується чотирикратним переважанням макрофагів фенотипу M2 (CD163+) над фенотипом M1 (CD68+). Саме такий імунологічний фон є критичною умовою для повторної активації клітин Іто, що забезпечує повну

структурно-функціональну реабілітацію печінки до 365-ї доби, на відміну від групи ізольованого впливу триптореліну, де розвивається некероване хронічне запалення та дефіцит регенераторного пулу клітин.

5. Центральне інгібування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призводить до морфологічних змін в імунокомпетентних клітинах та співвідношенні фенотипів макрофагів з 30-ї по 365-ту добу експерименту, а також до зсуву рівня функціональної активності L-аргінінзалежних ферментів у бік домінування активності iNOS. Причиною зміни поляризації макрофагів печінки в бік переважання прозапального фенотипу може бути зменшення інгібуючого впливу тестостерону на макрофаги.

6. Введення кверцетину виступає як модулюючий фактор на тлі довготривалого пригнічення синтезу тестостерону, проте повною мірою не нівелює імунну перебудову. Сформована на 365-у добу експерименту картина характеризується як стійкий хронічний імунозапальний стан низької інтенсивності, де основне навантаження припадає на мононуклеарно-фагоцитарну систему та лімфоцитарний апарат.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ:

Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органа при патологічних процесах, особливо при дисгормональних станах.

Отримані результати визначають важливість вивчення імунологічних властивостей непаренхімних клітинних компонентів печінки, а саме зміни фенотипу макрофагів M1/M2, активності клітин Іто, як потенційних маркерів розвитку фібротичних змін у тканинах органа при зміні гормонального статусу.

Отримані нові наукові дані щодо використання флавоноїда кверцетина, який виступає як модулюючий фактор на тлі довготривалого пригнічення синтезу тестостерону, що може бути використано, як теоретичне обґрунтування розробки методів корекції порушень функціонування печінки при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-печінка».

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Stetsuk Y, Akimov O, Mishchenko A. (2020). Морфологічні зміни та продукція активних форм кисню та азоту в сім'яниках щурів в умовах тривалої центральної депривації синтезу тестостерону. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії, 20(3), 205-210. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.20.3.205>.
2. Song MJ, Choi JY. Androgen dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease: Role of sex hormone binding globulin. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Nov 22;13:1053709. doi: 10.3389/fendo.2022.1053709.
3. Yassin AA, Alwani M, Talib R, Almeahmadi Y, Nettleship JE, Alrumaihi K, et al. Long-term testosterone therapy improves liver parameters and steatosis in hypogonadal men: a prospective controlled registry study. *Aging Male*. 2020 Dec;23(5):1553-1563. doi: 10.1080/13685538.2020.1867094. Epub 2021 Jan 13.
4. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep*. 2014 Mar 3;6:13. doi: 10.12703/P6-13.
5. Guilliams M, Scott CL. Does niche competition determine the origin of tissue-resident macrophages? *Nat Rev Immunol*. 2017 Jul;17(7):451-460. doi: 10.1038/nri.2017.42. Epub 2017 May 2.
6. Gottfried E, Kunz-Schughart LA, Weber A, Rehli M, Peuker A, Müller A, Kastenberger M, Brockhoff G, Andreesen R, Kreutz M. Expression of CD68 in non-myeloid cell types. *Scand J Immunol*. 2008 May;67(5):453-63. doi: 10.1111/j.1365-3083.2008.02091.x. PMID: 18405323.
7. Martinez-Pomares L, Platt N, McKnight AJ, da Silva RP, Gordon S. Macrophage membrane molecules: markers of tissue differentiation and heterogeneity. *Immunobiology*. 1996 Oct;195(4-5):407-16. doi: 10.1016/S0171-2985(96)80012-X.

8. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol*. 2013 Apr;13(4):227-42. doi: 10.1038/nri3405. Epub 2013 Mar 8. Erratum in: *Nat Rev Immunol*. 2013 Jul;13(7):542.
9. Fabrick BO, Dijkstra CD, van den Berg TK. The macrophage scavenger receptor CD163. *Immunobiology*. 2005;210(2-4):153-60. doi: 10.1016/j.imbio.2005.05.010. PMID: 16164022.
10. Chung CC, Lin YK, Kao YH, Lin SH, Chen YJ. Physiological testosterone attenuates profibrotic activities of rat cardiac fibroblasts through modulation of nitric oxide and calcium homeostasis. *Endocrine Journal*. 2021 Mar 28;68(3):307-315.
11. Oda M, Yokomori H, Han JY. Regulatory mechanisms of hepatic microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2003;29(3-4):167-82. PMID: 14724338.
12. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D, Rautou PE. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):212-227. doi: 10.1016/j.jhep.2016.07.009. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27423426.
13. Shetty S, Lalor PF, Adams DH. Liver sinusoidal endothelial cells - gatekeepers of hepatic immunity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Sep;15(9):555-567. doi: 10.1038/s41575-018-0020-y.
14. Weiskirchen R, Tacke F. Cellular and molecular functions of hepatic stellate cells in inflammatory responses and liver immunology. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2014 Dec;3(6):344-63. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.11.03.
15. Giancotti A, Monti M, Nevi L, Safarikia S, D'Ambrosio V, Brunelli R, et al. Functions and the Emerging Role of the Foetal Liver into Regenerative Medicine. *Cells*. 2019 Aug 16;8(8):914. doi: 10.3390/cells8080914. PMID: 31426422; PMCID: PMC6721721.
16. Robinson MW, Harmon C, O'Farrelly C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol*. 2016 May;13(3):267-76. doi: 10.1038/cmi.2016.3. Epub 2016 Apr 11. PMID: 27063467; PMCID: PMC4856809.

17. Bertolino P, Trescol-Biémont MC, Rabourdin-Combe C. Hepatocytes induce functional activation of naive CD8⁺ T lymphocytes but fail to promote survival. *Eur J Immunol.* 1998 Jan;28(1):221-36. doi: 10.1002/(SICI)1521-4141(199801)28:01<221::AID-IMMU221>3.0.CO;2-F. PMID: 9485202.
18. Lalor PF, Sun PJ, Weston CJ, Martin-Santos A, Wakelam MJ, Adams DH. Activation of vascular adhesion protein-1 on liver endothelium results in an NF-kappaB-dependent increase in lymphocyte adhesion. *Hepatology.* 2007 Feb;45(2):465-74. doi: 10.1002/hep.21497. PMID: 17256751.
19. Limmer A, Ohl J, Wingender G, Berg M, Jüngerkes F, Schumak B, et al. Cross-presentation of oral antigens by liver sinusoidal endothelial cells leads to CD8 T cell tolerance. *Eur J Immunol.* 2005 Oct;35(10):2970-81. doi: 10.1002/eji.200526034. PMID: 16163670.
20. Bourdi M, Masubuchi Y, Reilly TP, Amouzadeh HR, Martin JL, George JW et al. Protection against acetaminophen-induced liver injury and lethality by interleukin 10: role of inducible nitric oxide synthase. *Hepatology.* 2002 Feb;35(2):289-98. doi: 10.1053/jhep.2002.30956. PMID: 11826401.
21. Jaeschke H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Jun;290(6):G1083-8. doi: 10.1152/ajpgi.00568.2005. PMID: 16687579.
22. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Jan;26 Suppl 1:173-9. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06592.x. PMID: 21199529.
23. Schon HT, Bartneck M, Borkham-Kamphorst E, Nattermann J, Lammers T, Tacke F, Weiskirchen R. Pharmacological Intervention in Hepatic Stellate Cell Activation and Hepatic Fibrosis. *Front Pharmacol.* 2016 Feb 24;7:33. doi: 10.3389/fphar.2016.00033. PMID: 26941644; PMCID: PMC4764688.
24. Huang H, Park PH, McMullen MR, Nagy LE. Mechanisms for the anti-inflammatory effects of adiponectin in macrophages. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Mar;23 Suppl 1:S50-3. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.05284.x. PMID: 18336664.

25. Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology*. 2006 Feb;43(2 Suppl 1):S54-62. doi: 10.1002/hep.21060. PMID: 16447271.
26. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Jul;14(7):397-411. doi: 10.1038/nrgastro.2017.38. Epub 2017 May 10. PMID: 28487545.
27. Gobejishvili L, Barve S, Joshi-Barve S, Uriarte S, Song Z, McClain C. Chronic ethanol-mediated decrease in cAMP primes macrophages to enhanced LPS-inducible NF-kappaB activity and TNF expression: relevance to alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Oct;291(4):G681-8. doi: 10.1152/ajpgi.00098.2006. Epub 2006 Jun 1. PMID: 16751174.
28. Britton RS, Bacon BR. Role of free radicals in liver diseases and hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology*. 1994 Aug;41(4):343-8. PMID: 7959569.
29. Алексеева ІМ, Бризгіна ТМ, Павлович СІ, Ільчевич МВ. Печінка та імунологічна реактивність. Київ, Наукова Думка.1991. 168 с.
30. Strauss O, Phillips A, Ruggiero K, Bartlett A, Dunbar PR. Immunofluorescence identifies distinct subsets of endothelial cells in the human liver. *Sci Rep*. 2017 Mar 13;7:44356. doi: 10.1038/srep44356. PMID: 28287163; PMCID: PMC5347010.
31. Géraud C, Koch PS, Zierow J, Klapproth K, Busch K, Olsavszky V et al. GATA4-dependent organ-specific endothelial differentiation controls liver development and embryonic hematopoiesis. *J Clin Invest*. 2017 Mar 1;127(3):1099-1114. doi: 10.1172/JCI90086.
32. Lalor PF, Lai WK, Curbishley SM, Shetty S, Adams DH. Human hepatic sinusoidal endothelial cells can be distinguished by expression of phenotypic markers related to their specialised functions in vivo. *World J Gastroenterol*. 2006 Sep 14;12(34):5429-39. doi: 10.3748/wjg.v12.i34.5429.
33. Isse K, Harada K, Sato Y, Nakanuma Y. Characterization of biliary intra-epithelial lymphocytes at different anatomical levels of intrahepatic bile ducts under normal and pathological conditions: numbers of CD4+CD28- intra-epithelial

lymphocytes are increased in primary biliary cirrhosis. *Pathol Int.* 2006 Jan;56(1):17-24. doi: 10.1111/j.1440-1827.2006.01913.x.

34. Tsukada C, Yokoyama H, Miyaji C, Ishimoto Y, Kawamura H, Abo T. Immunopotential of intraepithelial lymphocytes in the intestine by oral administrations of beta-glucan. *Cell Immunol.* 2003 Jan;221(1):1-5. doi: 10.1016/s0008-8749(03)00061-3. PMID: 12742376.

35. Franceschini B, Ceva-Grimaldi G, Russo C, Dioguardi N, Grizzi F. The complex functions of mast cells in chronic human liver diseases. *Dig Dis Sci.* 2006 Dec;51(12):2248-56. doi: 10.1007/s10620-006-9082-8.

36. Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, Itose I, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Kaimori A, Oki C, Hiramatsu N, Kasahara A, Hayashi N. Impaired function of dendritic cells circulating in patients infected with hepatitis C virus who have persistently normal alanine aminotransferase levels. *Intervirology.* 2006;49(1-2):58-63. doi: 10.1159/000087264.

37. Patel AA, Ginhoux F, Yona S. Monocytes, macrophages, dendritic cells and neutrophils: an update on lifespan kinetics in health and disease. *Immunology.* 2021 Jul;163(3):250-261. doi: 10.1111/imm.13320. Epub 2021 Mar 15.

38. Sulczewski FB, Maqueda-Alfaro RA, Alcántara-Hernández M, Perez OA, Saravanan S, Yun TJ, Seong D et al. Transitional dendritic cells are distinct from conventional DC2 precursors and mediate proinflammatory antiviral responses. *Nat Immunol.* 2023 Aug;24(8):1265-1280. doi: 10.1038/s41590-023-01545-7. Epub 2023 Jul 6.

39. Averill L, Lee WM, Karandikar NJ. Differential dysfunction in dendritic cell subsets during chronic HCV infection. *Clin Immunol.* 2007 Apr;123(1):40-9. doi: 10.1016/j.clim.2006.12.001. Epub 2007 Jan 17.

40. Skytthe MK, Graversen JH, Moestrup SK. Targeting of CD163+ Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 31;21(15):5497. doi: 10.3390/ijms21155497.

41. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F, Seifi B, Mohammadi A, Afshari JT, Sahebkar A.

Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol.* 2018 Sep;233(9):6425-6440. doi: 10.1002/jcp.26429. Epub 2018 Mar 1.

42. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003 Jan;3(1):23-35. doi: 10.1038/nri978.

43. Röszer T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:816460. doi: 10.1155/2015/816460. Epub 2015 May 18.

44. Ricketts TD, Prieto-Dominguez N, Gowda PS, Ubil E. Mechanisms of Macrophage Plasticity in the Tumor Environment: Manipulating Activation State to Improve Outcomes. *Front Immunol.* 2021 May 7;12:642285. doi: 10.3389/fimmu.2021.642285.

45. Gautier EL, Ivanov S, Williams JW, Huang SC, Marcelin G, Fairfax K et al. Gata6 regulates aspartoacylase expression in resident peritoneal macrophages and controls their survival. *J Exp Med.* 2014 Jul 28;211(8):1525-31. doi: 10.1084/jem.20140570. Epub 2014 Jul 14.

46. Buechler MB, Kim KW, Onufer EJ, Williams JW, Little CC, Dominguez CX et al. A Stromal Niche Defined by Expression of the Transcription Factor WT1 Mediates Programming and Homeostasis of Cavity-Resident Macrophages. *Immunity.* 2019 Jul 16;51(1):119-130.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2019.05.010. Epub 2019 Jun 20.

47. Hoeffel G, Ginhoux F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. *Cell Immunol.* 2018 Aug;330:5-15. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.001. Epub 2018 Jan 12.

48. Bennett H, Troutman TD, Zhou E, Spann NJ, Link VM, Seidman JS et al. Discrimination of cell-intrinsic and environment-dependent effects of natural genetic variation on Kupffer cell epigenomes and transcriptomes. *Nat Immunol.* 2023 Nov;24(11):1825-1838. doi: 10.1038/s41590-023-01631-w.

49. Murray PJ. Macrophage Polarization. *Annu Rev Physiol.* 2017 Feb 10;79:541-566. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034339. Epub 2016 Oct 21.

50. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. Pillars Article: M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. *J. Immunol.* 2000. 164: 6166-6173. *J Immunol.* 2017 Oct 1;199(7):2194-2201. doi: 10.4049/jimmunol.1701141.
51. Lavin Y, Winter D, Blecher-Gonen R, David E, Keren-Shaul H, Merad M, Jung S, Amit I. Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment. *Cell.* 2014 Dec 4;159(6):1312-26. doi: 10.1016/j.cell.2014.11.018.
52. Gosselin D, Link VM, Romanoski CE, Fonseca GJ, Eichenfield DZ, Spann NJ et al. Environment drives selection and function of enhancers controlling tissue-specific macrophage identities. *Cell.* 2014 Dec 4;159(6):1327-40. doi: 10.1016/j.cell.2014.11.023.
53. Zhang L, Wang CC. Inflammatory response of macrophages in infection. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2014 Apr;13(2):138-52. doi: 10.1016/s1499-3872(14)60024-2. PMID: 24686541.
54. Gordon S, Plüddemann A. The Mononuclear Phagocytic System. Generation of Diversity. *Front Immunol.* 2019 Aug 9;10:1893. doi: 10.3389/fimmu.2019.01893.
55. Mackaness GB. Pillars article: cellular resistance to infection. *J. Exp. Med.* 1962. 116: 381-406. *J Immunol.* 2014 Oct 1;193(7):3185-221. PMID: 25240017.
56. Zhang J, Li S, Liu F, Yang K. Role of CD68 in tumor immunity and prognosis prediction in pan-cancer. *Sci Rep.* 2022 May 12;12(1):7844. doi: 10.1038/s41598-022-11503-2.
57. Holness CL, Simmons DL. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood.* 1993 Mar 15;81(6):1607-13. PMID: 7680921.
58. Troiano G, Caponio VCA, Adipietro I, Tepedino M, Santoro R, Laino L et al. Prognostic significance of CD68+ and CD163+ tumor associated macrophages in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol.* 2019 Jun;93:66-75. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.04.019. Epub 2019 Apr 28.

59. Steinert G, Schölch S, Niemietz T, Iwata N, García SA, Behrens B. et al. Immune Escape and Survival Mechanisms in Circulating Tumor Cells of Colorectal Cancer. *Cancer Res* 15 March 2014; 74 (6): 1694–1704. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1885>

60. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SK, Moestrup SK. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature*. 2001 Jan 11;409(6817):198-201. doi: 10.1038/35051594.

61. Etzerodt A, Moestrup SK. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxid Redox Signal*. 2013 Jun 10;18(17):2352-63. doi: 10.1089/ars.2012.4834. Epub 2012 Oct 19.

62. Liu H, Lin D, Xiang H, Chen W, Zhao S, Peng H, Yang J, Chen P, Chen S, Lu H. The role of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in atherosclerosis via its two different receptors. *Exp Ther Med*. 2017 Aug;14(2):891-897. doi: 10.3892/etm.2017.4600. Epub 2017 Jun 14.

63. Fabrick BO, van Bruggen R, Deng DM, Ligtenberg AJ, Nazmi K, Schornagel K et al. The macrophage scavenger receptor CD163 functions as an innate immune sensor for bacteria. *Blood*. 2009 Jan 22;113(4):887-92. doi: 10.1182/blood-2008-07-167064. Epub 2008 Oct 10.

64. Burkard C, Lillico SG, Reid E, Jackson B, Mileham AJ, Ait-Ali T et al. Precision engineering for PRRSV resistance in pigs: Macrophages from genome edited pigs lacking CD163 SRCR5 domain are fully resistant to both PRRSV genotypes while maintaining biological function. *PLoS Pathog*. 2017 Feb 23;13(2):e1006206. doi: 10.1371/journal.ppat.1006206.

65. Barros MH, Hauck F, Dreyer JH, Kempkes B, Niedobitek G. Macrophage polarisation: an immunohistochemical approach for identifying M1 and M2 macrophages. *PLoS One*. 2013 Nov 15;8(11):e80908. doi: 10.1371/journal.pone.0080908.

66. Guo L, Akahori H, Harari E, Smith SL, Polavarapu R, Karmali V et al. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied

by inflammation in atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2018 Mar 1;128(3):1106-1124. doi: 10.1172/JCI93025. Epub 2018 Feb 19.

67. Li J, Liu CH, Xu DL, Gao B. Significance of CD163-Positive Macrophages in Proliferative Glomerulonephritis. *Am J Med Sci*. 2015 Nov;350(5):387-92. doi: 10.1097/MAJ.0000000000000569.

68. Olmes G, Büttner-Herold M, Ferrazzi F, Distel L, Amann K, Daniel C. CD163+ M2c-like macrophages predominate in renal biopsies from patients with lupus nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2016 Apr 18;18:90. doi: 10.1186/s13075-016-0989-y.

69. Kazankov K, Tordjman J, Møller HJ, Vilstrup H, Poitou C, Bedossa P et al.. Macrophage activation marker soluble CD163 and non-alcoholic fatty liver disease in morbidly obese patients undergoing bariatric surgery. *J Gastroenterol Hepatol*. 2015 Aug;30(8):1293-300. doi: 10.1111/jgh.12943.

70. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*. 2013 Apr 25;496(7446):445-55. doi: 10.1038/nature12034.

71. Crispe I.N. (2009) The liver as a lymphoid organ. *Annu. Rev. Immunol.*27, 147–163 <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132629>.

72. Wawman R.E., Bartlett H. and Oo Y.H. (2017) Regulatory T cell metabolism in the hepatic microenvironment *Front. Immunol.* <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01889>.

73. Cheng ML, Nakib D, Perciani CT, MacParland SA. The immune niche of the liver. *Clin Sci (Lond)*. 2021 Oct 29;135(20):2445-2466. doi: 10.1042/CS20190654.

74. Drescher HK, Bartsch LM, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Intrahepatic TH17/TReg Cells in Homeostasis and Disease-It's All About the Balance. *Front Pharmacol*. 2020 Oct 2;11:588436. doi: 10.3389/fphar.2020.588436. PMID: 33123017; PMCID: PMC7566778.

75. Crispe, I. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol* 3, 51–62 (2003). <https://doi.org/10.1038/nri981>.

76. Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med.* 2007 Mar;13(3):108-16. doi: 10.1016/j.molmed.2007.01.003. Epub 2007 Jan 24.
77. Saraiva, M., O'Garra, A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol* 10, 170–181 (2010). <https://doi.org/10.1038/nri2711>.
78. Zhang LJ, Wang XZ. Interleukin-10 and chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12(11): 1681-1685 DOI: 10.3748/wjg.v12.i11.1681.
79. Breous E, Somanathan S, Vandenberghe LH, Wilson JM. Hepatic regulatory T cells and Kupffer cells are crucial mediators of systemic T cell tolerance to antigens targeting murine liver. *Hepatology* 2009 Aug;50(2):p 612-21. | DOI: 10.1002/hep.23043.
80. Cubero FJ, Nieto N. Kupffer cells and alcoholic liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006 Jun;98(6):460-72. English, Spanish. doi: 10.4321/s1130-01082006000600007. PMID: 16948545.
81. Gobejishvili L, Barve S, Joshi-Barve S, Uriarte S, Song Z, McClain C. Chronic ethanol-mediated decrease in cAMP primes macrophages to enhanced LPS-inducible NF-kappaB activity and TNF expression: relevance to alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Oct;291(4):G681-8. doi: 10.1152/ajpgi.00098.2006.
82. Huang H, Park PH, McMullen MR, Nagy LE. Mechanisms for the anti-inflammatory effects of adiponectin in macrophages. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Mar;23 Suppl 1:S50-3. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.05284.x.
83. Dondeti MF, El-Maadawy EA, Talaat RM. Hepatitis-related hepatocellular carcinoma: Insights into cytokine gene polymorphisms. *World J Gastroenterol.* 2016 Aug 14;22(30):6800-16. doi: 10.3748/wjg.v22.i30.6800. PMID: 27570418; PMCID: PMC4974580.
84. Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Monsalve M, Miranda FJ, Pérez S. Impairment of PGC-1 Alpha Up-Regulation Enhances Nitrosative Stress in the Liver during Acute Pancreatitis in Obese Mice. *Antioxidants (Basel).* 2020 Sep 19;9(9):887. doi: 10.3390/antiox9090887.

85. Roberts RA, Ganey PE, Ju C, Kamendulis LM, Rusyn I, Klaunig JE. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis. *Toxicol Sci.* 2007 Mar;96(1):2-15. doi: 10.1093/toxsci/kfl173.

86. Crosby, C.M., Kronenberg, M. Tissue-specific functions of invariant natural killer T cells. *Nat Rev Immunol* 18, 559–574 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0034-2>.

87. Verykokakis M, Kee BL. Transcriptional and epigenetic regulation of innate-like T lymphocyte development. *Curr Opin Immunol.* 2018 Apr;51:39-45. doi: 10.1016/j.coi.2018.01.006. Epub 2018 Feb 14.

88. Robinson, M., Harmon, C. & O'Farrelly, C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol* 13, 267–276 (2016). <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.3>.

89. Bonnardel J, T'Jonck W, Gaublomme D, Browaeys R, Scott CL, Martens L et al. Stellate Cells, Hepatocytes, and Endothelial Cells Imprint the Kupffer Cell Identity on Monocytes Colonizing the Liver Macrophage Niche. *Immunity.* 2019 Oct 15;51(4):638-654.e9. doi: 10.1016/j.immuni.2019.08.017.

90. Ju, C., Tacke, F. Hepatic macrophages in homeostasis and liver diseases: from pathogenesis to novel therapeutic strategies. *Cell Mol Immunol* 13, 316–327 (2016). <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.104>.

91. Heymann F, Peusquens J, Ludwig-Portugall I, Kohlhepp M, Ergen C, Niemietz P et al. Liver inflammation abrogates immunological tolerance induced by Kupffer cells. *Hepatology* 62(1):p 279-291, July 2015. | doi: 10.1002/hep.27793.

92. Waxman DJ, Kineman RD. Sex matters in liver fat regulation. *Science.* 2022 Oct 21;378(6617):252-253. doi: 10.1126/science.ade7614. Epub 2022 Oct 20.

93. Lonardo A, Nascimbeni F, Ballestri S, Fairweather D, Win S, Than TA et al. Sex Differences in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: State of the Art and Identification of Research Gaps. *Hepatology.* 2019 Oct;70(4):1457-1469. doi: 10.1002/hep.30626. Epub 2019 Sep 23.

94. Waxman DJ, Holloway MG. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. *Mol Pharmacol*. 2009 Aug;76(2):215-28. doi: 10.1124/mol.109.056705. Epub 2009 May 29.
95. Nikkanen J, Leong YA, Krause WC, Dermadi D, Maschek JA, Van Ry T et al. An evolutionary trade-off between host immunity and metabolism drives fatty liver in male mice. *Science*. 2022 Oct 21;378(6617):290-295. doi: 10.1126/science.abn9886. Epub 2022 Oct 20.
96. Almomani A, Hitawala AA, Kumar P, Alqaisi S, Alshaikh D, Alkhayyat M et al. Prevalence of hypothyroidism and effect of thyroid hormone replacement therapy in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A population-based study. *World J Hepatol*. 2022 Mar 27;14(3):551-558. doi: 10.4254/wjh.v14.i3.551.
97. Mavromati M, Jornayvaz FR. Hypothyroidism-Associated Dyslipidemia: Potential Molecular Mechanisms Leading to NAFLD. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 26;22(23):12797. doi: 10.3390/ijms222312797.
98. Kowalik MA, Columbano A, Perra A. Thyroid Hormones, Thyromimetics and Their Metabolites in the Treatment of Liver Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Jul 10;9:382. doi: 10.3389/fendo.2018.00382.
99. Kur P, Kolasa-Wołoskiuk A, Misiakiewicz-Has K, Wiszniewska B. Sex Hormone-Dependent Physiology and Diseases of Liver. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Apr 11;17(8):2620. doi: 10.3390/ijerph17082620.
100. Lin HY, Yu IC, Wang RS, Chen YT, Liu NC, Altuwaijri S, et al. Increased hepatic steatosis and insulin resistance in mice lacking hepatic androgen receptor. *Hepatology*. 2008;47:1924–1935. doi: 10.1002/hep.22252.
101. Asrani S.K., Devarbhavi H., Eaton J., Kamath P.S. Burden of liver diseases in the world. *J. Hepatol*. 2019;70:151–171. doi: 10.1016/j.jhep.2018.09.014.
102. Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat. Rev. Immunol*. 2004;4:583–594. doi: 10.1038/nri1412.
103. D'Amico G, Morabito A, D'Amico M, Pasta L, Malizia G, Rebora P, et al. New concepts on the clinical course and stratification of compensated and

decompensated cirrhosis. *Hepatol. Int.* 2018;12:34–43. doi: 10.1007/s12072-017-9808-z.

104. Llovet JM, Zucman-Rossi J, Pikarsky E, Sangro B, Schwartz M, Sherman M, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2016;2:16018. doi: 10.1038/nrdp.2016.18.

105. Marcellin P., Kutala B.K. Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver.* 2018;38:2–6. doi: 10.1111/liv.13682.

106. Iredale J.P. Models of liver fibrosis: Exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J. Clin. Investig.* 2007;117:539–548. doi: 10.1172/JCI30542.

107. Elpek G.O. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J. Gastroenterol.* 2014;20:7260–7276. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7260.

108. Zhou W.C., Zhang Q.B., Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J. Gastroenterol.* 2014;20:7312–7324. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7312.

109. Campana L., Iredale J.P. Regression of Liver Fibrosis. *Semin. Liver Dis.* 2017;37:1–10. doi: 10.1055/s-0036-1597816.

110. Ramachandran P, Pellicoro A, Vernon MA, Boulter L, Aucott RL, Ali A, et al. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012;109:E3186–E3195. doi: 10.1073/pnas.1119964109.

111. Natarajan V., Harris E.N., Kidambi S. SECs (Sinusoidal Endothelial Cells), Liver Microenvironment, and Fibrosis. *Biomed. Res. Int.* 2017;2017:4097205. doi: 10.1155/2017/4097205.

112. Krenkel O., Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2017;17:306–321. doi: 10.1038/nri.2017.11.

113. Barron L., Wynn T.A. Fibrosis is regulated by Th2 and Th17 responses and by dynamic interactions between fibroblasts and macrophages. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2011;300:G723–G728. doi: 10.1152/ajpgi.00414.2010.

114. Kerkhoff C, Hofmann HA, Vormoor J, Melkonyan H, Roth J, Sorg C, et al. Binding of two nuclear complexes to a novel regulatory element within the human S100A9 promoter drives the S100A9 gene expression. *J Biol Chem*. 2002 Nov 1;277(44):41879-87. doi: 10.1074/jbc.M207990200.

115. Wang S, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang S, Ma J. S100A8/A9 in Inflammation. *Front Immunol*. 2018 Jun 11;9:1298. doi: 10.3389/fimmu.2018.01298. PMID: 29942307; PMCID: PMC6004386.

116. Mizobuchi H, Yamakoshi S, Omachi S, Osada Y, Sanjoba C, Goto Y, et al. The accumulation of macrophages expressing myeloid-related protein 8 (MRP8) and MRP14 in the spleen of BALB/cA mice during infection with *Plasmodium berghei*. *Exp Parasitol*. 2014 Mar;138:1-8. doi: 10.1016/j.exppara.2014.01.003. Epub 2014 Jan 16. PMID: 24440297.

117. Achouiti A, Vogl T, Van der Meer AJ, Stroo I, Florquin S, de Boer OJ, et al. Myeloid-related protein-14 deficiency promotes inflammation in staphylococcal pneumonia. *Eur Respir J*. 2015 Aug;46(2):464-73. doi: 10.1183/09031936.00183814.

118. Goldberg EL, Asher JL, Molony RD, Shaw AC, Zeiss CJ, Wang C, et al. β -Hydroxybutyrate Deactivates Neutrophil NLRP3 Inflammasome to Relieve Gout Flares. *Cell Rep*. 2017 Feb 28;18(9):2077-2087. doi: 10.1016/j.celrep.2017.02.004.

119. Abu El-Asrar AM, Alam K, Siddiquei MM, Van den Eynde K, Mohammad G, De Hertogh G, et al. Myeloid-Related Protein-14/MRP-14/S100A9/Calgranulin B is Associated with Inflammation in Proliferative Diabetic Retinopathy. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018;26(4):615-624. doi: 10.1080/09273948.2016.1245759.

120. Kamphuis W, Kooijman L, Schetters S, Orre M, Hol EM. Transcriptional profiling of CD11c-positive microglia accumulating around amyloid plaques in a mouse model for Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Oct;1862(10):1847-60. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.07.007. Epub 2016 Jul 15.

121. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and

Kidney Diseases; 2012—. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Analogues. 2018 Mar 20. PMID: 31643199.

122. Brunton LL, Chabner BA, Knollman BC, eds. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York: McGraw-Hill, 2011, pp. 1764.

123. Boccon-Gibod L, van der Meulen E, Persson BE. An update on the use of gonadotropin-releasing hormone antagonists in prostate cancer. *Ther Adv Urol*. 2011 Jun;3(3):127-40. doi: 10.1177/1756287211414457.

124. Van Poppel H, Klotz L. Gonadotropin-releasing hormone: an update review of the antagonists versus agonists. *Int J Urol*. 2012 Jul;19(7):594-601. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.02997.x. Epub 2012 Mar 14. PMID: 22416801.

125. Bolton EM, Lynch T. Are all gonadotrophin-releasing hormone agonists equivalent for the treatment of prostate cancer? A systematic review. *BJU Int*. 2018 Sep;122(3):371-383. doi: 10.1111/bju.14168.

126. Mottet N, Bellmunt J, Briers E, et al. Guidelines on prostate cancer. 2016. Available at: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer>.

127. Breul J, Lundström E, Purcea D, Venetz WP, Cabri P, Dutailly P, et al. Efficacy of Testosterone Suppression with Sustained-Release Triptorelin in Advanced Prostate Cancer. *Adv Ther*. 2017 Feb;34(2):513-523. doi: 10.1007/s12325-016-0466-7.

128. Merseburger AS, Hupe MC. An Update on Triptorelin: Current Thinking on Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *Adv Ther*. 2016 Jul;33(7):1072-93. doi: 10.1007/s12325-016-0351-4. Epub 2016 May 31.

129. Hands KE, Alvarez A, Bruder JM. Gonadotropin-releasing hormone agonist-induced pituitary apoplexy in treatment of prostate cancer: case report and review of literature. *Endocr Pract*. 2007 Oct;13(6):642-6. doi: 10.4158/EP.13.6.642.

130. Guerra Y, Lacuesta E, Marquez F, Raksin PB, Utset M, Fogelfeld L. Apoplexy in non functioning pituitary adenoma after one dose of leuprolide as treatment for prostate cancer. *Pituitary*. 2010;13(1):54-9. doi: 10.1007/s11102-009-0202-2.

131. Metbulut AP, Adıgüzel KT, İslamoğlu C, Boyraz M, Mısırlıoğlu ED. Evaluation of Hypersensitivity Reactions with Leuprolide Acetate and Triptorelin Acetate in Children. *Indian J Endocrinol Metab.* 2021 NovDec;25(6):527-531. doi: 10.4103/ijem.ijem_333_21.
132. Kirkgoz T, Karakoc-Aydiner E, Bugrul F, Yavas Abali Z, Helvacioğlu D, Kiykim A, et al. Management of Systemic Hypersensitivity Reactions to Gonadotropin-Releasing Hormone Analogues during Treatment of Central Precocious Puberty. *Horm Res Paediatr.* 2020;93(1):66-72. doi: 10.1159/000505329.
133. Miao J, Yan Q, Wang L, Wang X. Three cases of transient hyperthyroidism after triptorelin treatment - case report and literature review. *Gynecol Endocrinol.* 2018 Sep;34(9):734-735. doi: 10.1080/09513590.2018.1445710.
134. Cheung TK, Lo KW, Lam CW, Lau W, Lam PK. A crossover study of triptorelin and leuprorelin acetate. *Fertil Steril.* 2000 Aug;74(2):299-305. doi: 10.1016/s0015-0282(00)00598-7.
135. Bianchi V, Mezzani A. Androgens and cardiac diseases. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2013 Dec;80(4):161-9. doi: 10.4081/monaldi.2013.5232. PMID: 25087292.
136. Dunn JF, Nisula BC, Rodbard D. Transport of steroid hormones: Binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1981; 53: 58-68.
137. Naróg D, Sobkowiak A. Electrochemistry of Flavonoids. *Molecules.* 2023 Nov 16;28(22):7618. doi: 10.3390/molecules28227618.
138. Gutiérrez-Grijalva EP, Picos-Salas MA, Leyva-López N, Criollo-Mendoza MS, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. Flavonoids and Phenolic Acids from *Oregano*: Occurrence, Biological Activity and Health Benefits. *Plants (Basel).* 2017 Dec 26;7(1):2. doi: 10.3390/plants7010002.

139. Castaldo L, Narváez A, Izzo L, Graziani G, Gaspari A, Minno GD, Ritieni A. Red Wine Consumption and Cardiovascular Health. *Molecules*. 2019 Oct 8;24(19):3626. doi: 10.3390/molecules24193626.
140. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev*. 2016 Jul-Dec;10(20):84-89. doi: 10.4103/0973-7847.194044.
141. Gutierrez-Grijalva EP, Ambriz-Pere DL, Leyva-Lopez N, Castillo-Lopez RI, Heiedia JB. Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. *Arch Latinoam Nutr*. 2016 Jun;66(2):87-100.
142. Wagner CE, Jurutka PW, Marshall PA, Groy TL, van der Vaart A, Ziller JW, et al. Modeling, synthesis and biological evaluation of potential retinoid X receptor (RXR) selective agonists: novel analogues of 4-[1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)ethynyl]benzoic acid (bexarotene). *J Med Chem*. 2009 Oct 8;52(19):5950-66. doi: 10.1021/jm900496b.
143. Kirkland JL, Tchkonina T. Senolytic drugs: from discovery to translation. *J Intern Med*. 2020 Nov;288(5):518-536. doi: 10.1111/joim.13141.
144. Xiao J, Bai W. Bioactive phytochemicals. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(6):827-829. doi: 10.1080/10408398.2019.1601848. PMID: 31070480.
145. Takada I, Kouzmenko AP, Kato S. Wnt and PPARgamma signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. *Nat Rev Rheumatol*. 2009 Aug;5(8):442-7. doi: 10.1038/nrrheum.2009.137.
146. Terao J. Factors modulating bioavailability of quercetin-related flavonoids and the consequences of their vascular function. *Biochem Pharmacol*. 2017 Sep 1;139:15-23. doi: 10.1016/j.bcp.2017.03.021. Epub 2017 Apr 2.
147. Mozaffarian D, Wu JHY. Flavonoids, Dairy Foods, and Cardiovascular and Metabolic Health: A Review of Emerging Biologic Pathways. *Circ Res*. 2018 Jan 19;122(2):369-384. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309008.
148. Papież MA. The effect of quercetin on oxidative DNA damage and myelosuppression induced by etoposide in bone marrow cells of rats. *Acta Biochim Pol*. 2014;61(1):7-11. Epub 2014 Mar 17.

149. Maurya AK, Vinayak M. Anticarcinogenic action of quercetin by downregulation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and protein kinase C (PKC) via induction of p53 in hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Mol Biol Rep.* 2015 Sep;42(9):1419-29. doi: 10.1007/s11033-015-3921-7.

150. Maurya AK, Vinayak M. Modulation of PKC signaling and induction of apoptosis through suppression of reactive oxygen species and tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1): key role of quercetin in cancer prevention. *Tumour Biol.* 2015 Nov;36(11):8913-24. doi: 10.1007/s13277-015-3634-5.

151. Sharmila G, Athirai T, Kiruthiga B, Senthilkumar K, Elumalai P, Arunkumar R, et al. Chemopreventive effect of quercetin in MNU and testosterone induced prostate cancer of Sprague-Dawley rats. *Nutr Cancer.* 2014;66(1):38-46. doi: 10.1080/01635581.2014.847967.

152. Sharmila G, Bhat FA, Arunkumar R, Elumalai P, Raja Singh P, Senthilkumar K, et al. Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in in vivo model. *Clin Nutr.* 2014 Aug;33(4):718-26. doi: 10.1016/j.clnu.2013.08.011.

153. Ali H, Dixit S. Quercetin attenuates the development of 7, 12-dimethyl benz (a) anthracene (DMBA) and croton oil-induced skin cancer in mice. *J Biomed Res.* 2015 Apr;29(2):139-44. doi: 10.7555/JBR.29.20130025. Epub 2014 Dec 15.

154. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules.* 2019 Mar 21;24(6):1123. doi: 10.3390/molecules24061123.

155. Kobori M, Takahashi Y, Akimoto Y, Sakurai M, Matsunaga I, Nishimuro H, et al. Chronic high intake of quercetin reduces oxidative stress and induces expression of the antioxidant enzymes in the liver and visceral adipose tissues in mice. *J. Funct. Foods.* 2015 May;15:551–560. doi: 10.1016/j.jff.2015.04.006.

156. Granado-Serrano AB, Martín MA, Bravo L, Goya L, Ramos S. Quercetin modulates Nrf2 and glutathione-related defenses in HepG2 cells: Involvement of p38. *Chem Biol Interact.* 2012 Jan 25;195(2):154-64. doi: 10.1016/j.cbi.2011.12.005.

157. Lesjak M, Beara I, Simin N, Pintać D, Majkić T, Bekvalac K, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *J. Funct. Foods*. 2018 Jan; 40: 68–75.

158. Cheng SC, Huang WC, JH SP, Wu YH, Cheng CY. Quercetin inhibits the production of IL-1 β -induced inflammatory cytokines and chemokines in ARPE-19 cells via the MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Intern. J. of Mol. Sci.* 2019 20(12), 2957. <https://doi.org/10.3390/ijms20122957>.

159. Jahan S, Iftikhar N, Ullah H, Rukh G, Hussain I. Alleviative effect of quercetin on rat testis against arsenic: a histological and biochemical study. *Syst Biol Reprod Med*. 2015 Apr;61(2):89-95. doi: 10.3109/19396368.2014.998350.

160. Wang J, Miao M, Zhang Y, Liu R, Li X, Cui Y, et al. Quercetin ameliorates liver injury induced with Tripterygium glycosides by reducing oxidative stress and inflammation. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015 Jun;93(6):427-33. doi: 10.1139/cjpp-2015-0038.

161. Unsal C, Kanter M, Aktas C, Erboga M. Role of quercetin in cadmium-induced oxidative stress, neuronal damage, and apoptosis in rats. *Toxicol Ind Health*. 2015 Dec;31(12):1106-15. doi: 10.1177/0748233713486960.

162. Adedara IA, Subair TI, Ego VC, Oyediran O, Farombi EO. Chemoprotective role of quercetin in manganese-induced toxicity along the brain-pituitary-testicular axis in rats. *Chem Biol Interact*. 2017 Feb 1;263:88-98. doi: 10.1016/j.cbi.2016.12.019.

163. Yao Z, Gu Y, Zhang Q, Liu L, Meng G, Wu H, et al. Estimated daily quercetin intake and association with the prevalence of type 2 diabetes mellitus in Chinese adults. *Eur J Nutr*. 2019 Mar;58(2):819-30. doi: 10.1007/s00394-018-1713-2.

164. Yazıcı S, Ozcan CU, Hismiogullari AA, Sunay FB, Ozcan T, Berksoy EA, et al. Protective Effects of Quercetin on Necrotizing Enterocolitis in a Neonatal Rat Model. *Am J Perinatol*. 2018 Apr;35(5):434-40. doi: 10.1055/s-0037-1608660.

165. Veith C, Drent M, Bast A, van Schooten FJ, Boots AW. The disturbed redox-balance in pulmonary fibrosis is modulated by the plant flavonoid quercetin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2017 Dec 1;336:40-48. doi: 10.1016/j.taap.2017.10.001.

166. Guo X, Li Y, Wang W, Wang L, Hu S, Xiao X, et al. The construction of preclinical evidence for the treatment of liver fibrosis with quercetin: A systematic review and meta-analysis. *Phytother Res*. 2022 Oct;36(10):3774-91. doi: 10.1002/ptr.7569.

167. Zaenah Zuhair Alamri. Effect of Luteolin and Quercetin on Thioacetamide Induced Hepatic Fibrosis in Rats. *Int. J. Pharmacol*. 2019, 15(7), 863–71. <https://doi.org/10.3923/ijp.2019.863.871>.

168. Altamirano-Barrera A, Barranco-Fragoso B, Méndez-Sánchez N. Management strategies for liver fibrosis. *Annals of Hepatology*. 2017, 16(1), 48-56. <https://doi.org/10.5604/16652681.1226814>.

169. Cheng SC, Huang WC, S Pang JH, Wu YH, Cheng CY. Quercetin Inhibits the Production of IL-1 β -Induced Inflammatory Cytokines and Chemokines in ARPE-19 Cells via the MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 17;20(12):2957. doi: 10.3390/ijms20122957.

170. Cuevas MJ, Tieppo J, Marroni NP, Tuñón MJ, González-Gallego J. Suppression of amphiregulin/epidermal growth factor receptor signals contributes to the protective effects of quercetin in cirrhotic rats. *J Nutr*. 2011 Jul;141(7):1299-305. doi: 10.3945/jn.111.140954.

171. Shin WS, Rockson SG. Animal models for the molecular and mechanistic study of lymphatic biology and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1131:50-74. doi: 10.1196/annals.1413.005.

172. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей : Конвенція Ради Європи (редакція від 18.03.1986). Доступно: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text.

173. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України (редакція від 04.08.2017). Відомості Верховної Ради України. 2006;27 Ст. 230:990. Доступно: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.

174. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. Ендокринологія. 2003;8(1): 142-5.

175. Botté MC, Lerrant Y, Lozach A, Bérault A, Counis R, Kottler ML. LH down-regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor, but not GnRH, mRNA levels in the rat testis. *J Endocrinol.* 1999; 162(3): 40915. doi:10.1677/joe.0.1620409.26.

176. Albadrani GM, Binmowyna MN, Bin-Jumah MN, El-Akabawy G, Aldera H, Al-Farga AM. Quercetin protects against experimentally-induced myocardial infarction in rats by an antioxidant potential and concomitant activation of signal transducer and activator of transcription. *J Physiol Pharmacol.* 2020 Dec; 71(6): 125-7. doi: 10.26402/jpp.2020.

177. Derakhshanian H, Djalali M, Djazayeri A, Javanbakht MH, Zarei M, Hekmatdoost A, et al. Quercetin Ameliorates Lipid and Apolipoprotein Profile in High-Dose Glucocorticoid Treated Rats. *Arq Bras Cardiol.* 2020 Jul;115(1):102-108. English, Portuguese. doi: 10.36660/abc.20180397.

178. Варенюк ІМ, Держинський МЕ. Методи цито-гістологічної діагностики:навчальний посібник.Київ: Інтерсервіс. 2019. 256 с.

179. Костиленко ЮП, Ковальов ЄВ. Методи роботи з напівтонкими епоксидними зрізами в гістологічній практиці. *Архів анатомії, гістології і ембріології.* 1978;12: 68–72.

180. Bahriy MM, Dibrova VA, editors. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen.* Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328s. [in Ukrainian].

181. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *J. Ukr. Biochem.* 2016;88(6):70-5. doi: 10.15407/ubj88.06.070.

182. Акімов О, Костенко В, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник патенту. Спосіб визначення загальної

аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Патент UA № 111874. 25 листоп. 2016.

183. Kashdan E, Duncan D, Parnell A, Schattler H. Mathematical methods in systems biology. *Math Biosci Eng.* 2016 Dec 1;13(6):i-ii. doi: 10.3934/mbe.201606i.

184. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Vilkhova O. V., Skotarenko T. A. The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *World of Medicine and Biology*, 2021, №2(76), 238-242.

185. Rud, M. (2021). Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*, 21(2), 203-7. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.21.2.203>.

186. Rud M, Shepitko V, Stetsuk Y, Akimov O. (2022). The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*, 26(1-2), 22-5. <https://doi.org/10.31718/mep.2022.26.1-2.06>.

187. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O.Ye. Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment. *Bulletin of problems biology and medicine*, 2022, Issue 2 Part 2, 165, 151-155.

188. Rud MV, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Sydorenko AG, Voloshyna OV, Starchenko II, et al. Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day. *World of Medicine and Biology*, 2023, №2(84), 229-33.

189. Rud M, Stetsuk Y, Shepitko V, Vilkhova O, Pelypenko L, Voloshyna O, et al. (2024). Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. *International journal of endocrinology (Ukraine)*, 20(7), 511-516. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.20.7.2024.1450>

190. Рудь МВ, Шепітько ВІ. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію

тестостерону у віддалені терміни спостереження. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини : матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р; Полтава, 2021; с. 80–1

191. Рудь МВ, Вільхова ОВ, Скотаренко ТА. Морфо-функціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки на фоні пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; м. Полтава, 8 жовтня 2021р.

192. Rud MV, Shepitko V I, Skotarenko TA, Polyviana OA. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва; м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р; Полтава, 2022; с. 57–8.

193. Rud MV, Stetsuk YeV, Shepitko VI, Vilhova OV. The influence of quercetin on biochemical changes in rat liver tissue on the background of central deprivation of luteinizing hormone synthesis. Abstract book of the 22nd EAA Congress. 15th ISGA Congress 5th International Conference of Evolutionary Medicine; Vilnius, Lithuania, August 24–27, 2022; Vilnius, 2022; P. 199.

194. Rud M, Stetsuk Y. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання); м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р; Полтава, 2023; с. 107–8.

195. Rud MV, Stetsuk YeV. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population. Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського; м. Київ, 8–9 червня 2023; Київ, 2023; с. 101–2.

196. Rud MV, Stetsuk YeV. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population. Теорія та практика сучасної морфології» : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р; Дніпро, 2023; с. 94–5.

ДОДАТОК А

Список праць здобувача за темою дисертаційного дослідження

1. Рудь М.В. Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. (2021) *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 21(2), 203–207.
2. M.V. Rud', V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] (2021). The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *Світ медицини та біології*. № 2 (76), 238–242 (**Web of Science**).
3. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk, O.Ye. Akimov (2022.) The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*, 26 (1-2), 22-25.
4. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk, O.Ye. Akimov (2022.) Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment. *Вісник проблем біології і медицини*. 2(165), 151–155.
5. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk [et al.] (2023) Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day. *Світ медицини та біології*. № 2 (84), 229–233 (**Web of Science**).
6. M.V. Rud', V.I. Shepitko, Ye.V. Stetsuk [et al.] (2024) Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. № 7 (20), 511-516 (**Scopus**).

ДОДАТОК А1

Список праць здобувача, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Рудь М.В. Джерела вироблення оксиду азоту в антигенпрезентуючих клітинах печінки на центральну депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження / М.В. Рудь, В. І. Шепітько // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня – 1 жовтня 2021 р. – Полтава, 2021. – С. 80–81. *Форма участі – тези доповіді.*

2. Рудь М.В. Морфо-функціональні зміни імунокомпетентних клітин печінки на фоні пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу / М.В. Рудь, О.В. Вільхова, Т.А. Скотаренко // Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, 8 жовтня 2021р. - Полтава, 2021. - С. 145-147. *Форма участі – тези доповіді.*

3. Rud' M.V. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M.V. Rud', V. I. Shepitko, T. A. Skotarenko, O. A. Polyviana // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю

з дня народження професора І. О. Жутаєва, м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р. – Полтава, 2022. – С. 57–58. *Форма участі – тези доповіді.*

4. Rud' M. The influence of quercetin on biochemical changes in rat liver tissue on the background of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M. Rud', Ye. Stetsuk, V. Shepitko, O. Vilhova // Abstract book of the 22nd EAA Congress / 15th ISGA Congress 5th International Conference of Evolutionary Medicine, Vilnius, Lithuania, August 24–27, 2022. – Vilnius, 2022. – P. 199. *Форма участі – тези доповіді.*

5. Rud' M.V. Hepatic immunocompetent cell response to blocking the synthesis of luteinizing hormone on day 180 / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 107–108. *Форма участі – усна доповідь.*

6. Rud' M.V. Investigation of the effects of long – term luteinising hormone synthesis inhibition on the liver macrophage population / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці» присвяченої пам'яті члена-кореспондента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, м. Київ, 8–9 червня 2023. – Київ, 2023. – С. 101–102. *Форма участі – тези доповіді.*

7. Rud' M.V. Study of the impact of continuous inhibition of luteinising hormone synthesis on the hepatic macrophage population / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» , м. Дніпро, 1-3 листопада 2023 р. – Дніпро, 2023. – С. 94–95. *Форма участі – тези доповіді.*

8. Rud' M.V. S100A9 protein as a marker of hepatic inflammatory processes under long-term inhibition of luteinizing hormone synthesis / M.V. Rud', Ye. V. Stetsuk, O. V. Vilhova // Матеріали Всеукраїнської науково-

практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 118–120. *Форма участі – усна доповідь.*

9. Рудь М.В. Динаміка зміни експресії CD 68+ та CD 163+ макрофагів печінки на тлі тривалого пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону у щурів в експерименті / М.В. Рудь, Є.В. Стецук, О.В. Вільхова, О.В. Волошина // Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава, 30–31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 146–147. *Форма участі – усна доповідь.*

ДОДАТОК В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботиПолтавського державного медичного
університету МОЗ України

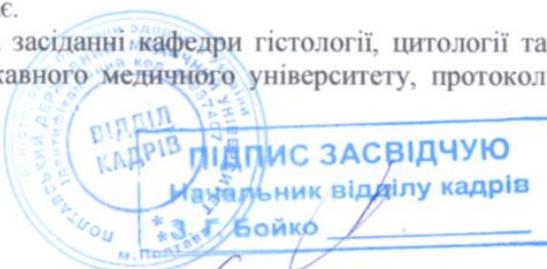
д. мед. н., професор Валентин ДВОРНИК

«17 грудня» 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: * матеріали дисертації «Морфофункціональний стан імунокомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютетінізуючого гормону триптореліном у щурів».
- 2) Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології М.В. Рудь.
- 3) Джерело інформації: Rud M., Stetsuk Y., Shepitko V., Vilkhova O., Pelypenko L., Voloshyna O., Sydorenko A., Pavlenko H., Sharlai N., Sych O. (2024). Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. INTERNATIONAL JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY (Ukraine), 20(7), 511-516. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.20.7.2024.1450>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: грудень 2025 року-січень 2026 року.
- 7) Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3): використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо поляризації макрофагів печінки на тлі змін гормонального статусу щурів-самців.
- 8) Зауваження та пропозиції: немає.
- 9) Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, протокол № 9 від 16 грудня 2025 року.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології,
цитології та ембріології
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України
кандидат медичних наук, доцент



Євген СТЕЦУК

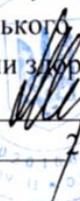
ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи

Тернопільського національного
медичного університету

імені І. Я. Горбачевського

Міністерства охорони здоров'я України

д. мед. н., проф.  Аркадій Шульгай

« 28 » 08 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали дисертаційної роботи «Морфофункціональний стан імункомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у щурів».

2. Установа розробника, автор: Полтавський державний медичний університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології М.В. Рудь.

3. Джерела інформації:

Immunocompetent liver cells reaction to inhibition of luteinizing hormone synthesis on the 180th day / M. V. Rud, V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] // Світ медицини та біології. – 2023 – Вип. 2 (84). – С. 229–233. <http://dx.doi.org/10.26724/2079-8334-2023-2-84-229-233>

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.

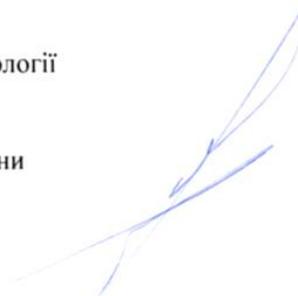
5. Форма впровадження: у навчальну роботу кафедри гістології та ембріології, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.

6. Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.

7. Зауваження та пропозиції: немає.

8. Протокол засідання кафедри № 7 від 26 серпня 2024 р.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор



Зоя Небесна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботи та інновацій Національний
медичний університет імені О. О. Богомольця
д.мед.н., професор Сергій Земсков
« 28 » 2024 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональний стан імунокomпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у щурів».
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології М.В. Рудь.
- 3) Джерело інформації:
Morphological changes in rat liver structure during central deprivation of luteinizing hormone synthesis at 365th day of experiment / M. V. Rud, V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk, O. Ye. Akimov // Вісник проблем біології і медицини. – 2022. – Вип. 2, т. 2 (165). – С. 151–155.
<http://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-151-155>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, протокол № 7 від 16 грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця
д.мед.н., професор

Олександр ГРАБОВИЙ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
доктор медичних наук
професор Вікторія СЕРГІЄНКО

« 06 » 01 2025 р

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональний стан імункомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у щурів».
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології М.В. Рудь.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate / M. V. Rud, V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al] // Світ медицини та біології. – 2021. – № 2 (76). – С. 238–242. <http://dx.doi.org/10.26724/2079-8334-2021-2-76-238-242>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, протокол № 9 від 19 грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького,
к.мед.н., доцент



Ілона ЧЕЛПАНОВА

«Затверджено»

проректор з науково – педагогічної роботи

Одеського національного
медичного університету,

к.мед.н., доцент

05.11.2024

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональний стан імункомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у щурів».
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології М.В. Рудь
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
Rud M, Stetsuk Y, Shepitko V, Vilkhova O, Pelypenko L, Voloshyna O, Sydorenko A, Pavlenko H, Sharlai N, Sych O. Alterations in the polarization of liver M1/M2 macrophages upon long-term administration of triptorelin in rats. Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal [Internet]. 2024 Nov. 28;20(7):511-6. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.20.7.2024.1450>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Одеського національного медичного університету МОЗ України.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол №4 від 1 листопада 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри анатомії людини
Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., професор

Олена АППЕЛЬХАНС