

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ім. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

ГРУШКА НАТАЛІЯ ГЕОРГІЇВНА

Н.Г. Грушка

УДК 612.017.1:612.621:612.4-092.4

МЕХАНІЗМИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ ТА
ОВАРІАЛЬНИХ КЛІТИН ПРИ АКТИВАЦІЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Реферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2026

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Янчій Роман Іванович,
завідувач відділу імунофізіології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Недзвецький Віктор Станіславович,
професор кафедри фізіології, біохімії тварин та
лабораторної діагностики,
заступник директора з наукової роботи НДЦ
«Biosafety Center»
Дніпровського державного аграрно-економічного
університету

доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НААН України,
Салига Юрій Тарасович,
директор Інституту біології тварин НААН

доктор біологічних наук, професор
Сківка Лариса Михайлівна,
завідувач кафедри мікробіології та імунології
Навчально-наукового центру «Інститут біології та
медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка

Захист відбудеться «__» _____ 2026 року о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України за адресою: 01024, м. Київ, вул. Богомольця, 4

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України за адресою: 01024, м. Київ, вул. Богомольця, 4

Реферат дисертації розміщений на сайті Інституту «__» _____ 2026 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук

_____ Літовка І.Г.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Імунна система відіграє ключову роль у підтриманні клітинного гомеостазу та регуляції запальних процесів, забезпечуючи за фізіологічних умов контрольовану імунну відповідь і елімінацію ушкоджених клітин. Проте надмірна активація імунної системи лежить в основі розвитку імуноопосередкованих, зокрема імунозапальних захворювань (Monteleone et al., 2023; Sadeghpour et al., 2024; Balcerowska & Krawczyk, 2025; Kumar et al., 2025). Високочутливими до ушкодження є імунокомпетентні та оваріальні клітини, зокрема гранульозні клітини й ооцити (Heylmann et al., 2021; Bazzano et al., 2024; Cacciottola et al., 2025).

Надмірна активація імунної відповіді супроводжується розвитком оксидативного та генотоксичного стресу, ушкодженням ДНК і активацією програм клітинної загибелі, що є ключовими механізмами розвитку імуноопосередкованих порушень. Особливо критичним є вплив цих процесів на оваріальні клітини, що призводить до дисфункції гранульозних клітин, порушення стероїдогенезу, погіршення якості ооцитів та зменшення оваріального резерву (Liu et al., 2023; Orisaka et al., 2023; Bazzano et al., 2024).

За нормальних умов імунокомпетентні клітини забезпечують регуляцію фолікулогенезу, однак при імунозапальних розладах відбувається їх патологічна активація, що супроводжується посиленням запальних сигналів та виснаженням фолікулярного резерву (Orisaka et al., 2023; Liu et al., 2023). Зниження останнього є незворотним процесом, що з віком супроводжується прогресивним зменшенням кількості та якості фолікулів (Hirano et al., 2025).

Важливим чинником додаткового виснаження оваріального резерву є хронічний стрес, оскільки він сприяє системній імунній активації та підвищенню рівнів прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α). Це призводить до розвитку хронічного запалення, оксидативного та генотоксичного стресу і, як наслідок, до дисфункції оваріальних клітин (Orisaka et al., 2023; Liu et al., 2023; Jiang et al., 2023; Zhou et al., 2024). Таким чином, поєднання вікових змін та хронічного стресу сприяє прогресуючому зниженню репродуктивного потенціалу.

За таких умов важливим є визначення ступеня ушкодження ДНК в імунокомпетентних та оваріальних клітинах як інтегрального показника генотоксичного стресу (Song et al., 2026; Liu et al., 2023). Порушення цілісності ДНК і надмірна клітинна загибель можуть сприяти зниженню репродуктивного потенціалу, посиленню запальних процесів і прогресуванню імунозапальних порушень (Panier et al., 2024; Isola et al., 2024; Cacciottola et al., 2025). Це обґрунтовує доцільність дослідження клітинно-молекулярних механізмів ушкодження імунокомпетентних та оваріальних клітин та розробки ефективних підходів до їх фармакологічної корекції.

Одним із перспективних напрямів фармакологічної корекції імуноопосередкованих ушкоджень є інгібування гіперактивації полі(АДФ-рибозо)полімерази-1 (ПАРП-1). У фізіологічних умовах цей фермент відіграє ключову роль у регуляції репарації ДНК і клітинної відповіді на стрес. Однак за умов імуноопосередкованого запалення відбувається надмірна активація ПАРП-1, що призводить до виснаження NAD⁺, зниження рівня АТФ, енергетичного дефіциту, некротичної загибелі клітин і посилення запалення, формуючи «замкнене коло» ушкодження (Rock et al., 2010). Інгібітори ПАРП-1 здатні обмежувати наслідки її гіперактивації, пригнічувати некротичну загибель клітин,

сприяючи збереженню клітинного гомеостазу (Martin-Guerrero et al., 2017; Макогон та Алексеева, 2012). Водночас роль ПАРП-1 у розвитку ушкоджень органів жіночої репродуктивної системи та порушенні функціонального стану імунокомпетентних і оваріальних клітин залишається недостатньо вивченою.

Важливим молекулярним механізмом імуноопосередкованого ушкодження є взаємодія ПАРП-1 із ядерним транскрипційним фактором κB (NF- κB) та амфотерином (HMGB1). Ядерний транскрипційний фактор κB є центральним регулятором прозапальної відповіді, тоді як HMGB1 вивільняється з ушкоджених клітин і є прозапальним медіатором (Zhang et al., 2021). Його дія реалізується через активацію рецепторів вродженого імунітету, що призводить до посилення продукції прозапальних цитокінів і підтримання хронічного запалення.

У механізмах розвитку імуноопосередкованих захворювань ПАРП-1 та HMGB1 діють у тісному взаємозв'язку: гіперактивація ПАРП-1 сприяє енергетичному виснаженню та некротичній загибелі клітин, що супроводжується вивільненням HMGB1 і подальшим посиленням імунозапальних реакцій (Vitali et al., 2023; Ditsworth et al., 2007). Фармакологічне інгібування ПАРП-1 супроводжується пригніченням NF- κB -залежної прозапальної відповіді та обмеженням запального процесу (Hareendran et al., 2016; Hu et al., 2025). Разом із тим, потенціал цих сигнальних механізмів щодо захисту соматичних і оваріальних клітин, запобігання генотоксичному та оксидативному стресу і підтримання репродуктивного здоров'я за умов імуноопосередкованих ушкоджень залишається недостатньо вивченим, що обґрунтовує необхідність подальших досліджень.

Враховуючи роль ПАРП-1 у підтриманні геномної стабільності, його контрольоване інгібування розглядається як перспективний терапевтичний підхід для корекції запальних процесів (Hu et al., 2025). ПАРП-інгібуючі властивості мають не лише синтетичні препарати, а й сполуки природного походження, флавоноїди, поліфеноли та інші (Tharamelvelyil et al., 2023; Maluchenko et al., 2021). Окрему увагу привертають антиоксиданти, які здатні обмежувати оксидативний і нітрозативний стрес, знижувати ушкодження ДНК, підтримувати клітинну життєздатність і застосовуються як лікарські засоби та дієтичні добавки для профілактики хронічних і запальних захворювань, сприяючи збереженню клітинного гомеостазу (Banasik et al., 2012; Maluchenko et al., 2021; Chandimali & Bak, 2025).

Водночас перспективним напрямом є використання наноматеріалів з антиоксидантними властивостями, здатних нейтралізувати активні форми кисню і захищати клітини від ушкодження ДНК. Такі наноматеріали можуть виявляти цитопротективні властивості (Guo et al., 2021; Chen et al., 2022; Liu et al., 2024). Таким чином, застосування природних модуляторів активності ПАРП-1, антиоксидантів та наноматеріалів розглядається як перспективний підхід до корекції імуноопосередкованих ушкоджень і збереження клітинної життєздатності.

Виходячи з наведеного, актуальність дослідження визначається необхідністю вивчення клітинно-молекулярних механізмів порушення функціонування імунокомпетентних і оваріальних клітин за умов надмірної імунної активації та розробки підходів до їх корекції. Особливе значення мають дослідження порушення цілісності ДНК, розвитку генотоксичного стресу та механізмів клітинної загибелі при системному (ендотоксемія, гіперімунокомплексемія) і органоспецифічному імуноопосередкованому

ушкодженні печінки. Встановлення ролі сигнальних шляхів за участю ПАРП-1 у регуляції імунозапальних процесів відкриває можливості для пошуку нових терапевтичних мішеней. Модуляція цих шляхів, зокрема за допомогою інгібіторів ПАРП-1 та модуляторів NF- κ B/HMGB1, а також застосування антиоксидантів і наноматеріалів розглядається як перспективна стратегія збереження цілісності ДНК і підтримання клітинної життєздатності. Очікується, що отримані результати сприятимуть розробці підходів до профілактики та лікування імуніопосередкованих порушень репродуктивної функції та матимуть потенціал для клінічного впровадження з метою підвищення ефективності лікування імуніопальних і репродуктивних розладів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано в межах НДР відділу імуніфізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України:

1) «Вивчення механізмів розвитку імунііндукованих запальних процесів в печінці і органах жіночої репродуктивної системи та шляхів їх корекції» (державний реєстраційний номер теми 0108U003914);

2) «Дослідження молекулярно-генетичних та імуніопатологічних механізмів функціональних порушень жіночої репродуктивної системи та можливості їх корекції» (державний реєстраційний номер теми 0112U008233);

3) «Дослідження клітинно-молекулярних механізмів імунііндукованих розладів жіночої репродуктивної системи та коригуючого впливу наночастинок металів» (державний реєстраційний номер теми 0116U004471);

4) «Роль аларміну амфотерину, сиртуїнів та наночастинок металів за умов імунііндукованих розладів жіночої репродуктивної системи» (державний реєстраційний номер теми 0119U103964);

5) «Механізми та шляхи корекції регульованої загибелі клітин імунної (тимуса і лімфатичних вузлів) та репродуктивної (яєчників і сім'яників) систем» (державний реєстраційний номер теми 0124U001370).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було дослідження механізмів порушення функціонування імунікомпетентних та оваріальних клітин при надмірній активації імунної відповіді та визначення ефективних засобів їх корекції.

1. Відтворити експериментальні моделі імуніопосередкованого ушкодження у мишей із залученням вродженої, клітинної та гуморальної ланок імунної відповіді для комплексного аналізу механізмів його розвитку, включаючи порушення інтегральної цілісності геному, функціонального стану клітин імунної та репродуктивної систем, а також морфологічні зміни імунікомпетентних органів.
2. З'ясувати вплив фармакологічного інгібування ПАРП-1 на ступінь ушкодження ДНК, життєздатність імунікомпетентних клітин та клітин кумулюсного оточення ооцитів, а також охарактеризувати гістоструктурні зміни тканини печінки за умов імуніопосередкованого ушкодження із застосуванням відповідних інгібіторів.

3. В умовах оксидативного стресу *in vitro* дослідити вплив інгібіторів ферменту ПАРП-1 на ступінь ушкодження ДНК, а також на некротичну й апоптотичну загибель імункомпетентних клітин.
4. Дослідити функціонально-метаболічний стан клітин вродженого імунітету, а також визначити рівень малонового діальдегіду (МДА) як показника оксидативного стресу за умов імуніопосередкованого ушкодження та за дії інгібітора ПАРП-1.
5. З'ясувати участь амфотерину (NMGB1) як маркера некротичної загибелі клітин у розвитку генотоксичного стресу та порушенні цілісності ДНК клітин імунної системи.
6. Дослідити активацію ядерного транскрипційного фактора NF-κB за умов імуніопосередкованого ушкодження.
7. Вивчити вплив речовин з антиоксидантними властивостями та наноструктурованих сполук на функціональний стан імункомпетентних та оваріальних клітин за умов імуніопосередкованого ушкодження.

Об'єкт дослідження - функціональний стан клітин імунної та репродуктивної систем мишей, зокрема порушення інтегральної цілісності ДНК та життєздатності клітин при надмірній активації імунної відповіді, спричиненої експериментальними впливами, а також можливості корекції виявлених порушень.

Предмет дослідження - клітинно-молекулярні механізми порушення функціонування імункомпетентних та оваріальних клітин при експериментальній активації імунної відповіді різного генезу, що включають розвиток генотоксичного стресу, порушення інтегральної цілісності ДНК та активацію шляхів клітинної загибелі (апоптозу та некрозу), а також можливості фармакологічної корекції викликаних порушень із застосуванням інгібіторів ПАРП-1, модуляторів NF-κB- та NMGB1-залежних сигнальних шляхів, антиоксидантів і наноструктурованих матеріалів.

Методи дослідження.

Для вирішення поставлених у роботі завдань було використано комплекс фізіологічних, морфологічних, молекулярно-біологічних, імунологічних, біохімічних та фармакологічних методів. Застосовано культивування клітин *in vitro* (зокрема ооцитів із оцінкою мейотичного дозрівання), метод ДНК-комет (лужний варіант) для оцінки ушкодження ДНК та подвійне флуоресцентне забарвлення клітин для визначення шляхів клітинної загибелі. Рівень експресії мРНК генів визначали методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР), активацію NF-κB - методами імуноблотингу та імуноцитохімії, а рівень полі(АДФ-рибози) (ПАР) - імуноцитохімічним методом. Імунологічні дослідження включали імуофлуоресцентний аналіз, оцінку фіксації імуноглобулінів у тканинах та рівня циркулюючих імунних комплексів. Біохімічні та цитохімічні методи включали НСТ-тест, визначення рівня МДА та активності каталази. Фармакологічні підходи застосовували для оцінки впливу інгібіторів ПАРП-1 (4-гідроксиквіназолін, 3-амінобензамід), антиоксидантів (кверцетин, етилметилгідроксипіридину сукцинат) та наночастинок і нанотехнологічно отриманих сполук (наночастинки срібла, цитрат германію).

Наукова новизна отриманих результатів.

Отримано нові дані, які свідчать, що імуноопосередковане ушкодження, індуковане введенням бичачого сироваткового альбуміну (БСА), конканаваліну А (КонА) та ліпополісахариду (ЛПС), призводить до порушення інтегральної цілісності ДНК в імунокомпетентних клітинах, що проявляється зниженням відсотка клітин із мінімальними ушкодженнями ДНК (0–1 клас) та підвищенням відсотка клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями (3–4 клас) у тимусі та лімфатичних вузлах. Встановлено, що за дії КонА характер ДНК-пошкоджень є більш складним і різноспрямованим.

Вперше проведено комплексний аналіз взаємозв'язку імунозапального ушкодження та дисфункції клітин репродуктивної системи за умов БСА-індукованого імунокомплексного процесу. Показано, що надмірна імунна активація супроводжується ушкодженням ДНК як в імунокомпетентних, так і в оваріальних клітинах, а також порушенням мейотичного дозрівання ооцитів і посиленням некротичних та апоптотичних процесів у клітинах яєчника.

Вперше встановлено, що імунокомплексне ушкодження супроводжується активацією ПАРП-1 в імунокомпетентних та оваріальних клітинах, яка асоціюється з порушенням цілісності ДНК і пригніченням мейотичного дозрівання ооцитів. Доведено, що інгібування ПАРП-1 призводить до зниження ушкодження ДНК, нормалізації мейотичного дозрівання ооцитів, що обґрунтовує перспективність ПАРП-1 як потенційної терапевтичної мішені.

У дослідженнях *in vivo* та *in vitro* доведено, що фармакологічне інгібування ПАРП-1 має цитопротективний ефект, зменшуючи ушкодження ДНК і клітинну загибель. Встановлено, що механізм дії 4-гідроксиквіназоліну, блокатора ПАРП-1, пов'язаний зі зниженням генерації АФК, пригніченням вивільнення НМGB1 та активації NF-κB, що підтверджує участь сигнального шляху ПАРП-1/НМGB1/NF-κB.

Вперше показано, що застосування антиоксидантів (кверцетину та етилметилгідроксипіридину сукцинату) вірогідно знижує ушкодження ДНК в імунокомпетентних та оваріальних клітинах і сприяє нормалізації мейотичного дозрівання ооцитів та збереженню цілісності ДНК і клітинної життєздатності. Також встановлено, що наночастинки срібла і цитрат германію призводять до зменшення генотоксичного стресу і клітинної загибелі, проявляючи цитопротективний ефект.

Вперше показано, що етилметилгідроксипіридин сукцинат та наночастинки срібла модулюють експресію генів HAS2, COX2 і GREM1 у кумулюючих клітинах за умов БСА-індукованого імунокомплексного ушкодження, що супроводжується покращенням мейотичного дозрівання ооцитів.

Встановлено, що ушкодження ДНК та некротична загибель клітин є важливими чинниками виснаження оваріального резерву і порушення репродуктивного потенціалу при імуноопосередкованих розладах, що обґрунтовує доцільність фармакологічної корекції із застосуванням модуляторів клітинної загибелі для збереження репродуктивного здоров'я.

Практичне значення роботи.

Дослідження має теоретичне і практичне значення для з'ясування механізмів ушкодження імунокомпетентних і оваріальних клітин за умов надмірної активації імунної відповіді. На теоретичному рівні результати дослідження поглиблюють уявлення про генотоксичний стрес, некротичну загибель клітин та участь ключових молекулярних регуляторів (ПАРП-1, HMGB1, NF- κ B) у реалізації ушкоджень при системних (ендотоксемія, гіперімунокомплексемія) та органоспецифічних (КонА-індукований гепатит) моделях.

Отримані експериментальні дані можуть слугувати основою для подальшого дослідження модуляторів клітинної загибелі, антиоксидантів і наноматеріалів щодо захисту імунної та репродуктивної систем. Встановлення односпрямованих змін ступеня ушкодження ДНК і життєздатності клітин імунної та репродуктивної систем обґрунтовує можливість використання показників ушкодження імунокомпетентних клітин як перспективного маркера імунозапальних змін для раннього виявлення дисфункції репродуктивної системи без прямого втручання в оваріальні тканини. Це відкриває можливості для створення неінвазивних методів оцінки вираженості імунозапального процесу у випадках безпліддя, асоційованого з імуноопосередкованими порушеннями, а також для пошуку молекулярних механізмів фармакологічної корекції на ранніх етапах розвитку патологічного процесу.

Практична цінність роботи полягає у можливості використання розроблених експериментальних моделей для доклінічного тестування лікарських засобів, зокрема препаратів, спрямованих на фармакологічну корекцію оваріальної дисфункції та імуноопосередкованих запальних ушкоджень. Встановлена ефективність інгібіторів ПАРП-1, антиоксидантів та наноматеріалів обґрунтовує перспективність розробки нових підходів до профілактики і лікування імуноопосередкованих і репродуктивних порушень. Отримані результати можуть бути використані науковцями в галузі фізіології, патофізіології та репродуктології, викладачами у навчальних програмах з патофізіології, імунології, цитології, гістології та репродуктології, а також студентами й аспірантами закладів вищої освіти біологічного, медичного профілю та галузі ветеринарної медицини.

Особистий вклад здобувача.

Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, виконаним безпосередньо автором. Здобувачем самостійно сформульовано основні ідеї, мету та завдання дослідження, обрано експериментальні моделі, здійснено пошук та аналіз сучасної наукової літератури. Автор особисто організував та виконав переважну частину експериментальних досліджень, здійснив збір фактичного матеріалу, статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів. Теоретичне узагальнення, аналіз результатів, формулювання наукових положень і висновків, а також підготовку основного тексту дисертаційної роботи виконано здобувачем особисто. Науковий консультант брав участь у формуванні наукової концепції роботи, обговоренні отриманих результатів та редагуванні висновків. Деякі етапи експериментальних досліджень виконано у співпраці зі співавторами та колегами Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України - Н.В. Макогон, С.І. Павлович, О.А. Кондрацькою (Шепель) та В.О. Срібною.

Апробація результатів дослідження.

Основні положення дисертації були представлені на семінарах Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, а також на наукових форумах: конгресах Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (2010, 2016); читаннях ім. В.В. Підвисоцького (2012, 2016, 2025); XIII international Medical Congress “Euromedica – Hannover” (Hanover, Germany, 2013); The XXII International Symposium “Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism” (Krakow, Poland, 2014); з'їздах Українського товариства клітинної біології з міжнародною участю (2014, 2016); пленумі наукового товариства патофізіологів України (2014); конгресах та пленумах Українського наукового товариства патофізіологів з міжнародною участю (2016, 2022, 2024); 3rd International Conference “Smart Bio” (Kaunas, Lithuania, 2–4 May 2019); Галицьких читаннях (2019, 2020); Ukrainian conference with International Participation “Chemistry, physics and Technology of Surface” and Workshop “Nanostructures and nanomaterials in medicine: challenges, tasks and perspectives” (2021); XXVIII Congress of the Polish Physiological Society (Gdansk, September 2021); Наукові читання імені О.О. Богомольця (2022); Всеукраїнській науково-практичній конференції “Актуальні питання патологічної фізіології” (2022); IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (19 травня 2022); XIII науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (2022); IV International Scientific Conference “Microbiology and Immunology - the Development Outlook in the 21st Century” (2022); All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation (2022); III міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції “Проблеми та досягнення сучасної біотехнології” (2023); IV міжнародній науково-практичній конференції “Проблеми та досягнення сучасної біотехнології” (2024); XIV науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (2024); Міжнародній конференції з нейронаук та наукових читаннях, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології (2024); IX Міжнародній науковій конференції “Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології” (2025).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 62 наукові праці: 15 статей у виданнях, проіндексованих у міжнародних наукометричних базах даних Scopus і Web of Science, з них – 2 статті у виданнях, віднесених до другого квартилю (Q2), 3 – віднесених до третього квартилю (Q3), 9 – віднесених до четвертого квартилю (Q4) і 1 стаття опублікована у виданні, що індексувалося в Scopus без визначеного квартиля; 12 статей у фахових наукових виданнях, затверджених МОН України категорії Б; 5 статей у зарубіжних виданнях, не індексованих у Scopus і Web of Science; 30 тез доповідей на наукових конгресах, з'їздах, конференціях. Автор є співавтором 3 патентів за темою дисертації.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, основної частини: огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів досліджень, аналізу даних та їх обговорення, заключення, висновків, списку використаних джерел. Дисертаційна робота представлена на 421 сторінці друкованого тексту та проілюстрована 74 рисунками та 13 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих мишах віком 6-8 тижнів, масою 18-24 г, яких утримували у віварії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Усі дослідження виконували з дотриманням міжнародних та національних біоетичних вимог.

Експериментальні моделі імуніопосередкованого ушкодження.

У роботі використовували три *in vivo* моделі імуніопосередкованого ушкодження та *in vitro* модель оксидативного стресу.

1. Модель імуніокомплексного ушкодження відтворювали шляхом внутрішньовенного введення бичачого сироваткового альбуміну (БСА) 1 раз на тиждень протягом 6 тижнів у зростаючих дозах (150–300 мг/кг) (Патент України №93351; Макогон Н.В.).
2. Модель Т-клітинного ушкодження печінки, індукованого конканаваліном А (КонА), відтворювали введенням поліклонального активатора Т-клітин КонА (“Sigma”, USA) в дозі 25 мг/кг (Макогон та ін., 2015).
3. Модель системної ендотоксемії, індукованої ліпополісахаридом (ЛПС), відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ЛПС (E. coli 0111:B4, Sigma, St. Louis, MO, USA) в дозі 3 мг/кг маси миші (Патент №139296 від 26.12.2019).
4. Модель оксидативного стресу *in vitro* відтворювали шляхом інкубації клітин із перекисом водню (H_2O_2 , 500 мкМ) та гіпохлорит-аніоном ($NaOCl$, 100 мкг/мл).

Клітинні культури. Клітини тимуса, лімфовузлів і селезінки виділяли методом механічної дисоціації з наступним відмиванням і лізисом еритроцитів; життєздатність оцінювали методом виключення трипанового синього.

Для оцінки мейотичного дозрівання ооцитів кумулюсно-ооцитарні комплекси виділяли з оваріальних фолікулів і культивували при 37 °C у середовищі ДМЕ з 5% ембріональної телячої сироватки; через 4 год визначали стадію метафази I, а через 20 год — метафази II.

Гістологічні та цитологічні дослідження. Органи (печінку, тимус, лімфатичні вузли) фіксували у 10% нейтральному формаліні з подальшою стандартною гістологічною обробкою та фарбуванням гематоксилін-еозином (Павлович та ін., 2014). Морфологічні зміни оцінювали за напівкількісною шкалою (0–4 бали).

Лейкограму периферичної крові визначали на мазках, забарвлених за Романовським–Гімзою, з підрахунком відсотка основних популяцій лейкоцитів.

Активність АЛТ у сироватці крові оцінювали за Райтманом–Френкелем.

Тест відновлення нітросинього тетразолу (НСТ-тест). Активацію нейтрофілів визначали за НСТ-тестом із розрахунком відсотка формаган-позитивних клітин і цитохімічного показника.

Аналіз катіонних білків. Функціональний стан нейтрофілів оцінювали лізосомально-катіонним тестом із визначенням цитохімічного коефіцієнта.

Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) або ТБК-реактивних продуктів у печінці залежно від моделі.

Активність антиоксидантних ферментів визначали за активністю каталази та супероксиддисмутази (СОД).

Рівень циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові визначали методом преципітації з поліетиленгліколем-6000. Оптичну густину визначали при 405 нм.

Функціональний стан імуніцитів оцінювали методом РГАЛ, що ґрунтується на зниженні адгезії сенсibiliзованих лімфоцитів у присутності специфічного антигену. Дослідження проводили на клітинах лімфовузлів із використанням БСА з визначенням відсотка адгезованих клітин і показника пригнічення адгезії.

Імунофлуоресцентне виявлення фіксації імуноглобулінів проводили на відбитках тканин. Препарати фіксували 1% спирт-пікриновою сумішшю та обробляли міченими ФІТС антитілами до мишачих імуноглобулінів (Sigma, USA) та аналізували напівкількісним методом з визначенням інтенсивності світіння за наступною шкалою: 0 – відсутнє; 1 – слабе світіння, 2 – помірне; 3 – виражене; 4 – сильне.

Активацию полі(АДФ-рибозо)полімерази (ПАРП-1) в клітинах тимуса, лімфовузлів та яєчників оцінювали імуноцитохімічно за накопиченням полі(АДФ-рибози) (ПАР). Забарвлення виконували пероксидазним методом з діамінобензидином. Після блокування ендогенної пероксидази та неспецифічного зв'язування препарати інкубували з первинними антитілами до ПАР (BD Pharmingen) та вторинними пероксидазними антитілами (Sigma, USA). Аналіз проводили за допомогою світлового мікроскопа, підраховуючи 200 клітин. Результати оцінювали напівкількісно за середнім цитохімічним коефіцієнтом (СЦК) (Грушка та ін., 2017).

Рівень експресії *Fas-рецептору* (CD 95) визначали на фіксованих метанол-ацетоном (1:1) препаратах імуноцитохімічним методом з використанням мишачих моноклональних анти-CD-95 антитіл (BD Biosciences). Інкубацію цитопрепаратів з первинними антитілами проводили при 4° С протягом 18 год, з вторинними - протягом 1 год при кімнатній температурі. Візуалізацію здійснювали за допомогою діамінобензидину. Інтенсивність забарвлення оцінювали напівкількісно (0–4 бали) з розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнта (СЦК).

Метод ДНК-комет. Ступінь ушкодження ДНК клітин визначали методом лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин напівкількісно за інтенсивністю забарвлення та довжиною «хвоста» комети. Комети класифікували на 5 класів (0–4) залежно від ступеня фрагментації ДНК у «голові» та «хвості» (рис.1).

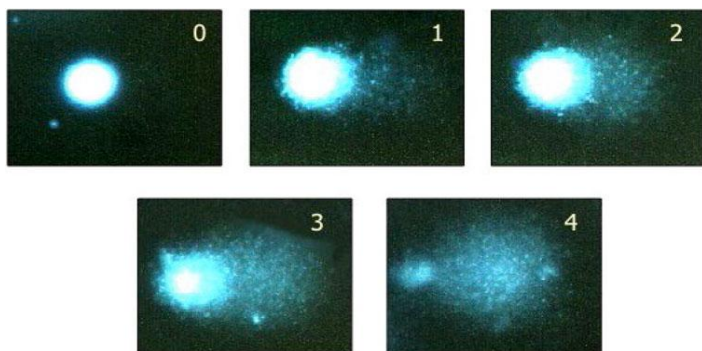


Рисунок 1. Класи ушкодження ДНК (0–4) за результатами лужного методу ДНК-комет (Cardoso et al., 2022).

0. **інтактні клітини;** комета має округлу форму без формування хвоста;
1. **мінімальні ушкодження ДНК,** спостерігається формування комет зі слабо вираженим хвостом;
2. **помірні ушкодження ДНК,** значна частина фрагментів ДНК локалізується в хвості комети, що свідчить про збільшення кількості розривів ДНК;
3. **виражені ушкодження ДНК,** фрагменти ДНК досягають краю хвоста комети, що супроводжується його розширенням у перпендикулярному напрямку;
4. **тяжкі ушкодження ДНК,** що характеризуються значним розширенням хвоста, зменшенням голови комети та масивною фрагментацією ДНК (Møller et al., 2023).

Оцінку шляхів клітинної загибелі проводили методом прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Hoechst 33342 та пропідій йодидом. Hoechst 33342 може проникати в клітини через неушкоджені мембрани (забарвлюючи їх ядра в синій колір), тоді як йодид пропідіума проникає тільки в клітини з ушкодженими мембранами й забарвлює їх в червоний колір, що дає можливість визначити некротичну загибель. Клітини без ушкодження плазматичної мембрани та без апоптотичних змін ядер враховували як живі. Аналіз проводили методом флуоресцентної мікроскопії з підрахунком 200 клітин (Грушка, 2017).

Визначення рівня експресії мРНК генів у кумулюючих клітинах методом ПЛР. Експресію мРНК визначали методом ЗТ-ПЛР. Тотальну РНК виділяли з кумулюючих клітин з подальшим синтезом кДНК. Ампліфікацію проводили із використанням праймерів генів HAS2, COX2, GREM1 та гена GAPDH як внутрішнього контролю. Продукти ПЛР аналізували методом агарозного гель-електрофорезу.

Дослідження активації NF-κB методом імуноблотингу. Активацію NF-κB визначали у ядерних екстрактах печінки методом SDS-PAGE з подальшим переносом білків на мембрану. Імуноблотинг проводили з використанням антитіл до p65. Після блокування мембран проводили інкубацію з первинними та вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою. Візуалізацію здійснювали з використанням діамінобензидину. Інтенсивність сигналу визначали методом денситометрії.

Транслокацію NF-κB оцінювали імуноцитохімічно за локалізацією p65-субодиниці в клітинах печінки, тимуса та лімфовузлів. Нуклеарна поява p65 розцінювалась як ознака активації фактора. Забарвлення виконували імунопероксидазним методом із використанням моноклональних антитіл до p65 та діамінобензидину. Аналіз проводили під світловим мікроскопом із підрахунком клітин та оцінкою за середнім цитохімічним коефіцієнтом (СЦК).

В експериментах використано такі речовини: бичачий сироватковий альбумін (БСА, 150–300 мг/кг), ліпополісахарид (*Escherichia coli* O111:B4, ЛПС) - 3 мг/кг, конканавалін А (Кона) - 25 мг/кг; індуктори оксидативного стресу (H_2O_2 - 500 мкМ, NaOCl - 100 мкг/мл); інгібітори ПАРП-1 (4-гідроксиквіназолін, 3-амінобензамід - 100 мг/кг), модулятори NF-κB (андрографолід, куркумін - 100 мг/кг) та інгібітор HMGB1 (гліциризинат амонію - 10–200 мг/кг); антиоксиданти (кверцетин - 4,5 мг/кг, 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат - 100 мг/кг); наноматеріали (цитрат германію - 100 мг/кг; наночастинки срібла - 30 нм у дозі 2 мг/кг). Для оцінки життєздатності клітин використовували трипановий синій, Hoechst 33342 та пропідій йодид; для візуалізації ДНК - DAPI; імуноцитохімічні реакції проводили з використанням діамінобензидину. Для імуноцитохімічних та імуноблотингових досліджень застосовували специфічні антитіла.

Статистичну обробку проводили після перевірки нормальності розподілу даних (Колмогорова–Смирнова, Д'Агостіно–Пірсона). За нормального розподілу застосовували t-критерій Стюдента або ANOVA з post hoc тестом Ньюмена–Кейлса; за відсутності нормальності — критерії Манна–Уїтні або Краскела–Уолліса з тестом Данна. Результати виражали як середнє значення ± SEM або медіану [мін–макс]. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущим. Обробку даних здійснювали з використанням програм STATISTICA 6.0 та GraphPad Prism 5.0.

Характеристика моделей імуноопосередкованого ушкодження

Надмірну активацію імунної відповіді моделювали з використанням трьох експериментальних підходів: імунокомплексного ушкодження (БСА), Т-клітинного гепатиту (КонА) та ендотоксемії (ЛПС), що відображають різні ланки імунної відповіді - гуморальну, клітинну (Т-клітинно-опосередковану) та вроджену. За умов БСА-індукованого ушкодження встановлено зростання рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові з $45,9 \pm 4,0$ у.о. до $56,7 \pm 3,6$ у.о. ($p < 0,05$), а також їх відкладання у печінці з $0,25 \pm 0,16$ у.о. до $2,50 \pm 0,32$ у.о. ($p < 0,001$), селезінці з $0,37 \pm 0,18$ у.о. до $3,2 \pm 0,36$ у.о. ($p < 0,001$) та аорті з $0,37 \pm 0,18$ у.о. до $1,75 \pm 0,36$ у.о. ($p < 0,05$). Це супроводжувалося активацією клітинної імунної відповіді, що проявлялося зниженням адгезії лімфоцитів у РГАЛ на 33,6 % ($p < 0,01$), та активацією вродженого імунітету, що проявлялося підвищенням генерації АФК (НСТ-тест), вмісту катіонних білків та зсувом лейкограми вліво. Водночас зростання МДА в печінці свідчило про оксидативний стрес.

У моделі КонА-індукованого ушкодження через 20 год після введення відзначено підвищення активності АЛТ (з $1,7 \pm 0,5$ до $59,7 \pm 9,1$ ммоль/(л·год), $p < 0,001$), що відображає ураження печінки, зумовлене Т-клітинною імунною відповіддю. Одночасно залучалися клітини вродженого імунітету, що проявлялося посиленням киснезалежного метаболізму нейтрофілів, зростанням вмісту катіонних білків і нейтрофілів у крові. У печінці підвищувався рівень МДА (у 2 рази; $p < 0,001$), що відображає оксидативний стрес.

За умов ЛПС-індукованої ендотоксемії через 20 год після введення встановлено активацію клітин вродженого імунітету: підвищення НСТ-тесту (з $23,8 \pm 6,0$ % до $63,0 \pm 7,3$ %; $p < 0,001$) і цитохімічного показника (з $0,34 \pm 0,06$ до $0,96 \pm 0,04$; $p < 0,001$), розвиток нейтрофілії (з $21,17 \pm 3,4$ % до $44,8 \pm 4,6$ %; $p < 0,05$) зі зсувом вліво (з $3,77 \pm 0,6$ % до $12,74 \pm 1,1$ %; $p < 0,01$). Також зростав вміст катіонних білків (з $0,04 \pm 0,01$ до $0,31 \pm 0,04$; $p < 0,001$) і рівень МДА в печінці (з $30,88 \pm 2,18$ до $56,9 \pm 3,9$; $p < 0,05$).

Отже, попри різні механізми ініціації імунної відповіді, у моделях відзначається активація клітин вродженого імунітету, що супроводжується запальною реакцією та оксидативним стресом, про що свідчать підвищення показників НСТ-тесту, вмісту катіонних білків, змінами лейкограми та рівня МДА. Це узгоджується з даними літератури, які свідчать, що надмірна імунна активація супроводжується розвитком оксидативного стресу та геномною нестабільністю в ІКК (Yan et al., 2023), зокрема внаслідок активації сигнального шляху TLR4–NF-κB при дії ЛПС (Ciesielska et al., 2021).

Інтегральна цілісність геному, життєздатність та шляхи загибелі імунокомпетентних клітин при надмірній активації імунної відповіді

Ступінь ушкодження ДНК імунокомпетентних клітин оцінювали методом ДНК-комет; характерні зміни розподілу клітин тимуса за класами при імуноопосередкованому ушкодженні наведено на рис. 2. Встановлено, що через 6 тижнів введення БСА інтегральний індекс ушкодження ДНК (ІДК) зростав у 4 рази ($p < 0,01$) із перерозподілом клітин у бік тяжких ушкоджень (4 клас), що проявлялося зменшенням відсотка клітин із інтактною, мінімально та помірно ушкодженою ДНК (0–2 класи) і зростанням кількості клітин із тяжкими ушкодженнями (4 клас) (рис. 3).

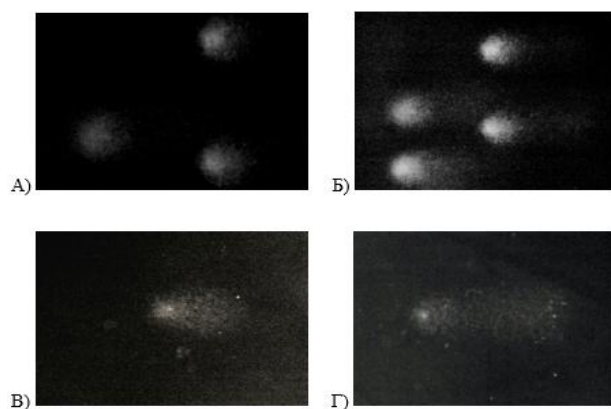


Рисунок 2. Клітини тимуса мишей. Метод ДНК-комет. А – контроль: переважають клітини з інтактною або мінімально ушкодженою ДНК (0–1 класи); Б, В, Г – імуноопосередковане ушкодження: представлені клітини з різним ступенем ушкодження ДНК – помірним (2 клас), вираженим (3 клас) та максимальним (4 клас). Забарвлення барвником DAPI. Мікрофото з люмінесцентного мікроскопа Nikon Eclipse E200, масляно-імерсійний об’єктив Plan Fluor x100.

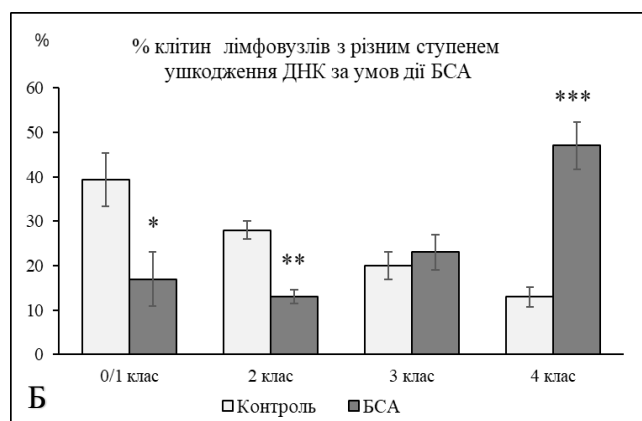
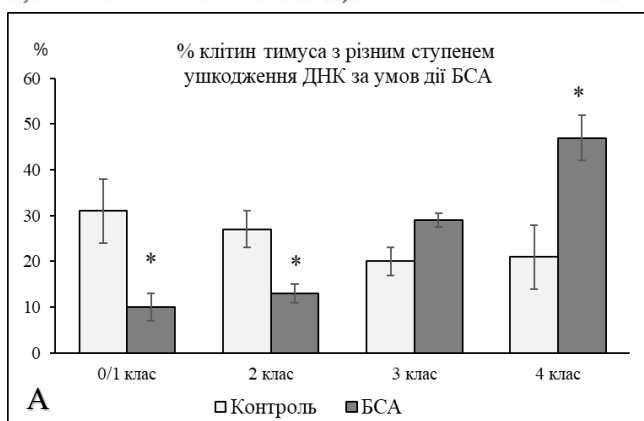


Рисунок 3. Вплив БСА-індукованого імунокомплексного ушкодження на ступінь ушкодження ДНК клітин тимуса (А) та лімфатичних вузлів (Б) (метод ДНК-комет).

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контролем.

У моделі Кона-індукованого ушкодження в клітинах тимуса та лімфатичних вузлів також виявлено виражене ушкодження ДНК (зростання ІДК у 5–5,5 раза) ($p < 0,01$), однак перерозподіл ступеня ушкоджень ДНК мав більш різноспрямований характер. При дії Кона збільшувалася кількість клітин усіх класів ушкодження ДНК у тимусі та знижувався відсоток неушкоджених клітин 0-го класу. Аналогічні зміни спостерігалися в клітинах лімфатичних вузлів (рис. 4) (Грушка, 2025). Це свідчить про інший характер порушення інтегральної цілісності геному при Т-клітинно-опосередкованій імунній відповіді порівняно з БСА-індукованою моделлю, що може бути зумовлено масивною активацією та проліферацією Т-лімфоцитів.

Введення ЛПС призводило до порушення цілісності геному: ІДК зростав у клітинах тимуса і лімфатичних вузлів у 4–6 разів ($p < 0,001$) із перерозподілом клітин за класами ушкодження ДНК у бік підвищення ступеня ушкодження (зростання відсотка клітин 3 класу – виражених ушкоджень; $p < 0,01$) (рис. 5) (Грушка та ін., 2019). При цьому відзначалося суттєве зниження відсотка клітин із неушкодженим або мінімально ушкодженим геномом. Це свідчить про розвиток вираженого генотоксичного стресу в імунокомпетентних клітинах за умов ЛПС-індукованої ендотоксемії.

Гетерогенний спектр ушкоджень ДНК при дії Кона (на відміну від зміщених у бік тяжких ушкоджень при БСА та ЛПС), ймовірно, частково зумовлений поліклональною активацією Т-клітин через CD3/МНС-зв’язування та вивільненням цитокінів і АФК (AboElnazar et al., 2020; Lee et al., 2016), що може зумовлювати різний ступінь ушкодження Т-клітин залежно від їх чутливості до окисдативного стресу.

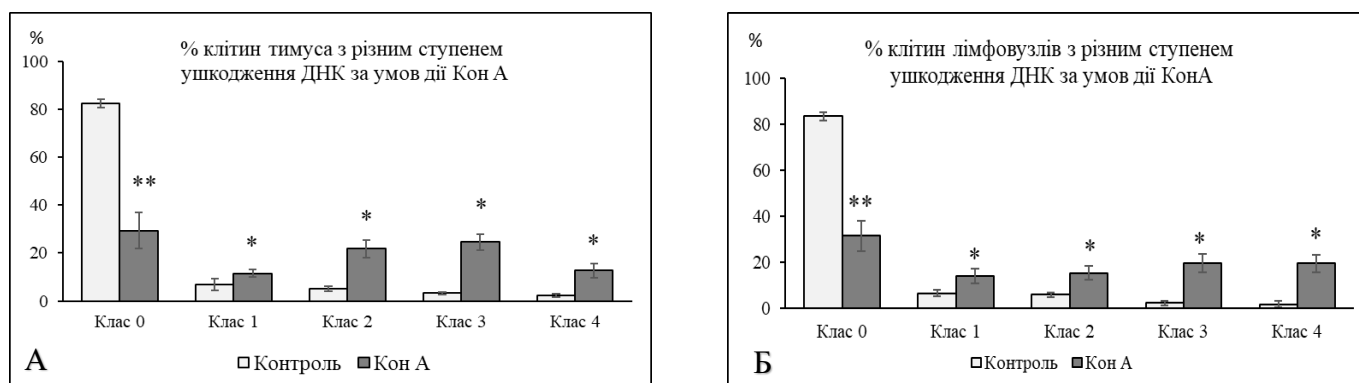


Рисунок 4. Вплив введення конканаваліну А (КонА) на ступінь ушкодження ДНК клітин тимуса (А) та лімфатичних вузлів (Б) (метод ДНК-комет).

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – порівняно з контролем.

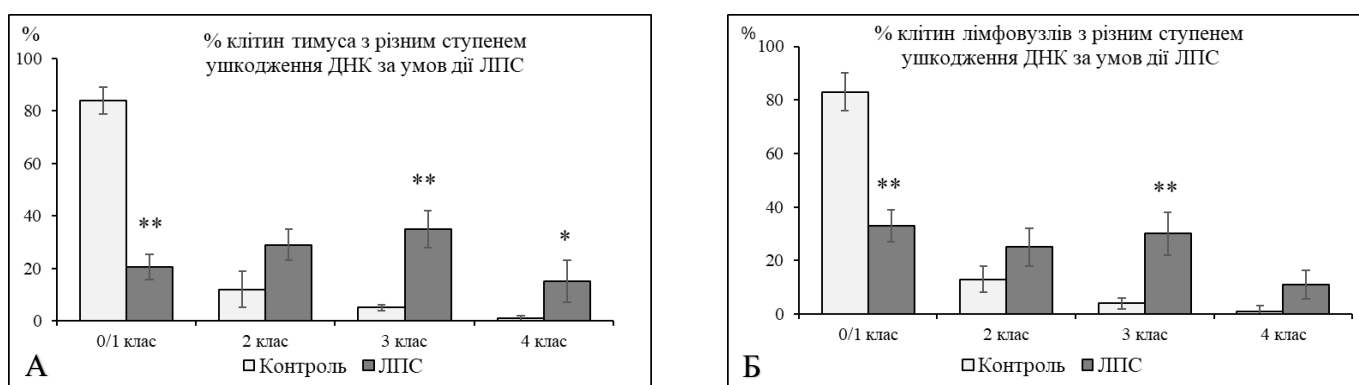


Рисунок 5. Вплив введення ліпополісахариду (ЛПС) на ступінь ушкодження ДНК клітин тимуса (А) та лімфатичних вузлів (Б) (метод ДНК-комет).

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – порівняно з контролем.

Виявлені відмінності ступеня ушкодження ДНК свідчать про різні механізми генотоксичного впливу в досліджуваних моделях. При БСА- та ЛПС-індукованих моделях переважно зростає відсоток клітин із вираженими та важкими ушкодженнями ДНК. Натомість при моделюванні КонА-гепатиту спостерігався більш гетерогенний розподіл ушкоджень, що відображає специфіку Т-клітинно-опосередкованої імунної відповіді. Методом прижиттєвого подвійного флуоресцентного забарвлення (рис. 6) встановлено, що введення БСА супроводжувалося зниженням життєздатності імунокомпетентних клітин і підвищенням їх загибелі. У лімфатичних вузлах відсоток живих клітин знижувався з $87,1 \pm 1,5$ % до $76,9 \pm 1,2$ % ($p < 0,001$), тоді як некроз зростає з $4,76 \pm 0,78$ % до $10,05 \pm 0,58$ % ($p < 0,001$), а апоптоз — з $8,16 \pm 0,86$ % до $13,05 \pm 0,9$ % ($p < 0,01$). У тимусі також відзначено зниження життєздатності та посилення некрозу ($p < 0,05$) (рис. 7 А) (Грушка та ін., 2015). Введення КонА призводило до зниження життєздатності клітин у тимусі (з $92,0 \pm 3,9$ % до $80,3 \pm 6,1$ %) та лімфатичних вузлах (з $92,6 \pm 2,2$ % до $81,4 \pm 1,0$ %) ($p < 0,001$) і посилення клітинної загибелі: апоптозу (у 2,8–3,6 раза) та некрозу (у 2,4–2,6 раза) (рис. 7 Б). За умов ЛПС-індукованої ендотоксемії знижувалася життєздатність клітин: у лімфатичних вузлах — з $95,1 \pm 0,8$ % до $81,7 \pm 2,3$ % ($p < 0,001$), у тимусі — з $95,7 \pm 0,9$ % до $72,5 \pm 4,1$ % ($p < 0,05$), що відбувалося за рахунок посилення апоптозу і, переважно, некрозу, який зростає у 6,1–13,8 раза (Грушка та ін., 2019) (рис. 7 В).

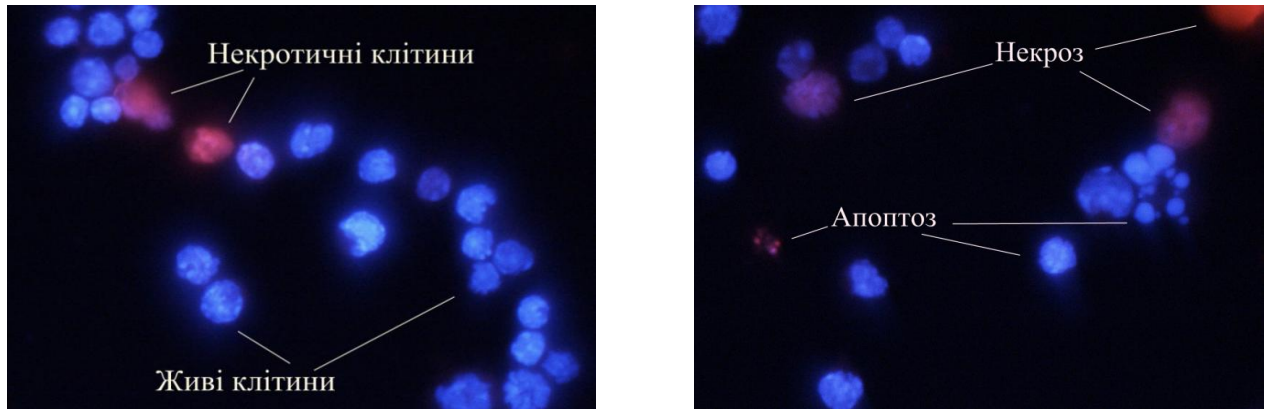


Рисунок 6. Клітини тимуса мишей. Оцінка життєздатності та типів клітинної загибелі імункомпетентних клітин методом подвійного прижиттєвого флуоресцентного забарвлення барвниками Hoechst 33342 і йодидом пропідіума. Мікрофото з люмінесцентного мікроскопа Nikon Eclipse E200; масляно-імерсійний об'єктив Plan Fluor $\times 100$.

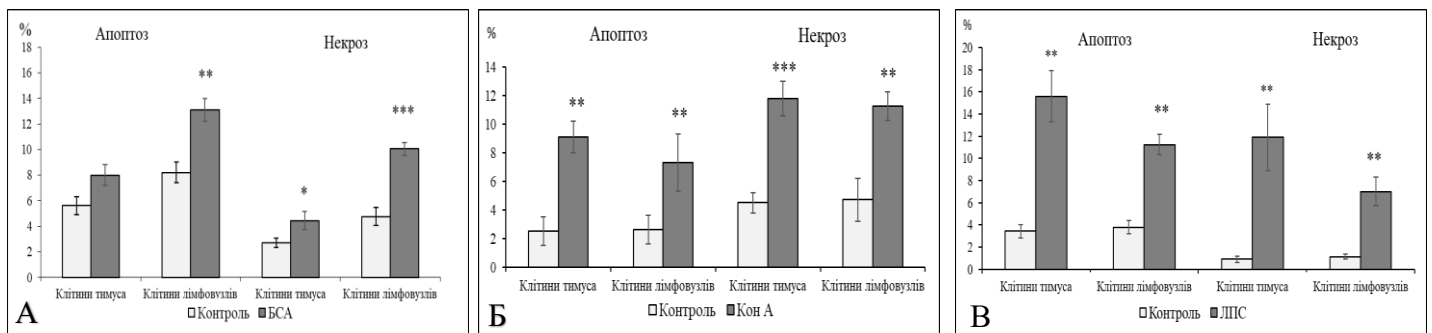


Рисунок 7. Вплив імуніопосередкованого ушкодження різного генезу (БСА, КонА, ЛПС) на відсоток апоптотичних та некротичних клітин тимуса та лімфатичних вузлів мишей.

Примітка: А - БСА-індуковане імунікомплексне ушкодження; Б - КонА-індукований Т-клітинний гепатит; В - ЛПС-індукована ендотоксемія. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контролем.

За умов ушкодження ДНК клітина залежно від його ступеня та метаболічного стану може активувати репараційні процеси або вступати в апоптоз чи некроз. При цьому збільшення фрагментації ДНК, зокрема частки клітин із тяжкими ушкодженнями, асоціюється з клітинною загибеллю. При визначенні життєздатності клітин встановлено, що в усіх досліджуваних моделях спостерігалось вірогідне зростання загибелі клітин тимуса та лімфатичних вузлів порівняно з контролем. За умов ІК-ураження (БСА) та ЛПС переважала некротична загибель, тоді як КонА більшою мірою індукував апоптотичну загибель клітин, особливо у тимоцитах (Грушка, 2017; 2025). Це узгоджується з тим, що тимус є органом активної селекції Т-клітин, для якого характерний високий рівень фізіологічного апоптозу (Wiegiers et al., 2011). Посилення апоптозу при введенні КонА пов'язане з активацією Т-клітин і продукцією прозапальних цитокінів (TNF- α , IFN- γ). Попри вищі абсолютні значення некрозу, більш виражене відносне зростання апоптозу може відображати механізми обмеження імунної відповіді (Макогон та ін., 2015; Грушка, 2025).

Гістоструктурні зміни органів імунної системи та печінки за умов імуноопосередкованого ушкодження

За умов БСА-індукованого ушкодження гістолічними дослідженнями виявлено зміни мікроциркуляції, що проявлялися набряком, розширенням перисинусоїдальних просторів та лейкоцитарною інфільтрацією, більш вираженими у печінці та селезінці (Павлович та ін., 2014; Макогон та ін., 2014).

У моделі КонА-індукованого ушкодження печінки через 20 год після введення КонА відзначалося достовірне посилення патологічних змін, що проявлялося мікротромбозом, набряками, дистрофією та загибеллю гепатоцитів.

Введення ЛПС індукувало виражену імунозапальну реакцію. У тимусі, лімфатичних вузлах і печінці відзначалися ушкодження судин, ендотеліальна дисфункція, набряки та крововиливи. У тимусі спостерігалися пікноз ядер і деструктивні зміни тимоцитів, що свідчило про посилення апоптозу та некрозу (рис. 8). У лімфатичних вузлах відзначалися дистрофічні зміни, зменшення розмірів і кількості лімфоїдних фолікулів та ушкодження ендотелію судин (рис. 9). Найбільш виражені зміни виявлялися в печінці: геморагічне просякання, лімфоцитарна інфільтрація та некробіоз гепатоцитів (Павлович та ін., 2024) (рис. 10 А, Б). Отже, морфологічні зміни підтверджували системний характер імуноопосередкованого ушкодження та залучення до патологічного процесу як органів імунної системи, так і печінки — важливого органа вродженого імунітету.

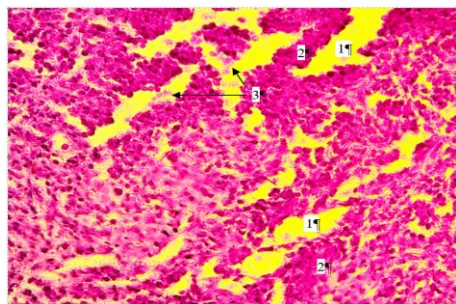


Рисунок 8. Гістоструктурні зміни тимуса при ЛПС-індукованій ендотоксемії: 1 – набряк периферичного відділу часточки; 2 – пікноз ядер; 3 – деструкція тимоцитів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Окуляр $\times 10$, об'єктив $\times 40$.

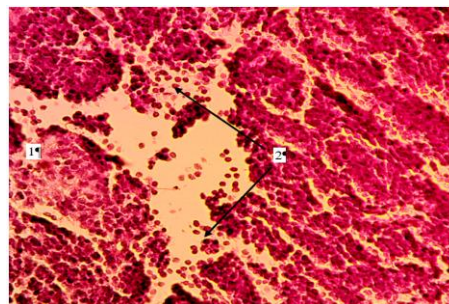


Рисунок 9. Гістоструктурні зміни лімфатичного вузла при ЛПС-індукованій ендотоксемії: 1 – некроз; 2 – геморагічне просякання. Забарвлення гематоксилін-еозином. Окуляр $\times 10$, об'єктив $\times 40$.

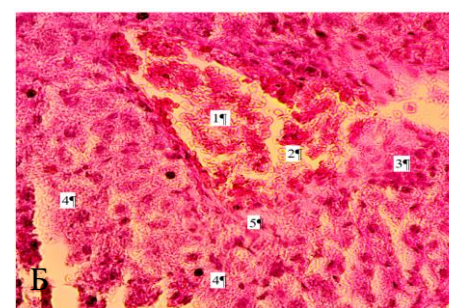
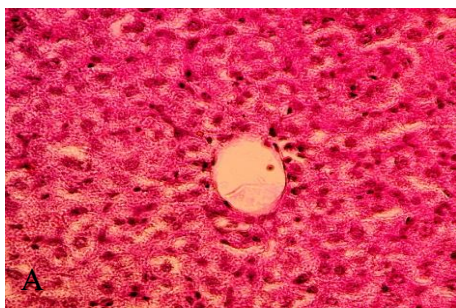


Рисунок 10. Гістоструктурні зміни печінки мишей. Мікрофотографія: А - контроль (трабекулярна структура збережена); Б - дія ЛПС: 1 - розширення і повнокрів'я судини; 2 - периваскулярний набряк; 3 - вогнищева лімфоцитарна інфільтрація тканини; 4 - некробіоз; 5 - некроз окремих гепатоцитів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Окуляр $\times 10$, об'єктив $\times 40$.

Вплив БСА-індукованого ушкодження на функціональний стан оваріальних клітин, генотоксичний стрес та клітинну загибель

Оскільки БСА-індуковане імунотоксичне ураження супроводжувалося відкладанням імунних комплексів у різних органах та формуванням васкулітоподібних змін (Павлович та ін., 2014; Radic et al., 2013), цю модель використано для вивчення порушень репродуктивної системи, зважаючи на здатність гіперімунотоксичності спричиняти мультиорганне ураження внаслідок ушкодження судинного русла, зокрема репродуктивних органів. За умов введення БСА встановлено пригнічення мейотичного дозрівання ооцитів на стадії метафази I та II у 1,35 і 1,38 раза порівняно з контролем. Зменшувався відсоток ооцитів, що досягали метафази I, до $62,16 \pm 4,89 \%$ ($p < 0,05$) порівняно з $84,05 \pm 3,5 \%$ у контролі, а також ооцитів метафази II — до $41,09 \pm 4,38 \%$ ($p < 0,05$) порівняно з $56,99 \pm 2,17 \%$ (рис. 11). У кумулюсних клітинах встановлено зниження експресії мРНК генів HAS2 приблизно у 2 рази ($p < 0,001$), COX2 - у 1,8 рази ($p < 0,001$), GREM1 - у 1,4 рази ($p < 0,01$) (рис. 12).

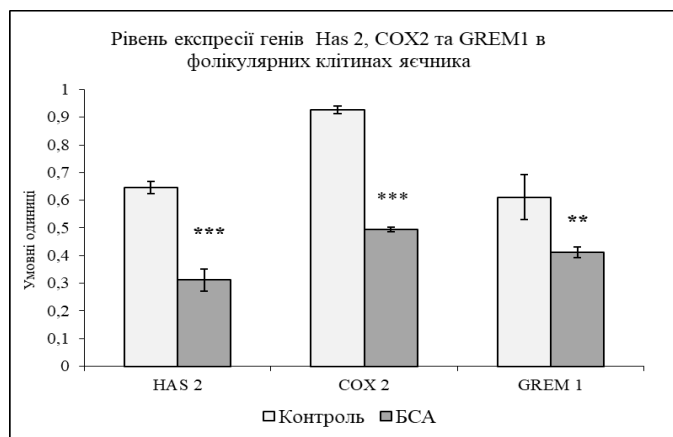
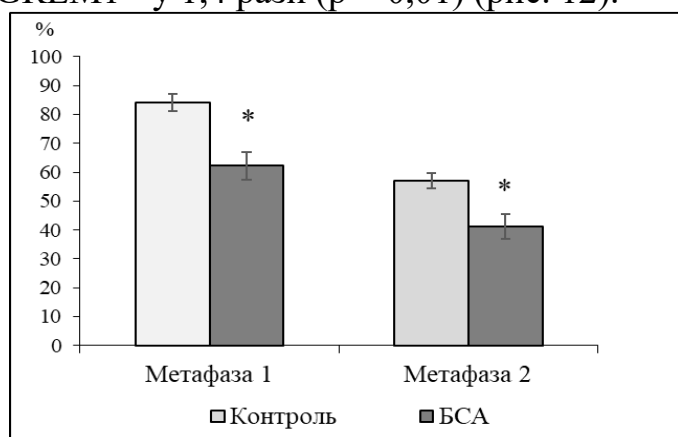


Рисунок 11. Вплив БСА-індукованого імунотоксичного ушкодження на мейотичне дозрівання ооцитів мишей.

Примітка: * $p < 0,05$ – порівняно з контролем.

Рисунок 12. Експресія генів HAS2, COX2 і GREM1 (мРНК) у кумулюсних клітинах мишей при імунотоксичному ушкодженні.

Примітка: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контролем.

У клітинах гранульози за умов введення БСА встановлено зростання ступеня ушкодження ДНК, що проявлялося підвищенням відсотка клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями ДНК (3 та 4 класи), що свідчить про розвиток генотоксичного стресу до $25,17 \pm 1,83 \%$ ($p < 0,01$) та $32,00 \pm 2,61 \%$ ($p < 0,01$) проти $8,17 \pm 0,75 \%$ і $3,50 \pm 0,84 \%$ у контролі. Водночас відзначалося зменшення відсотка клітин 0-1-го класів до $28,67 \pm 2,66 \%$ у групі БСА порівняно з $80,17 \pm 1,47 \%$ у контролі ($p < 0,01$) (Срібна та ін., 2016). При імунотоксичному ушкодженні встановлено зниження життєздатності гранульозних клітин до $56,7 \pm 2,9 \%$ у порівнянні з $73,7 \pm 3,7 \%$ ($p < 0,01$) у контрольній групі та зростання відсотка клітин з морфологічними ознаками некрозу до $22,10 \pm 2,3 \%$, у порівнянні з контролем - $7,3 \pm 1,7 \%$ ($p < 0,01$), тоді як рівень апоптозу суттєво не змінювався. (Shepel et al., 2016). Таким чином, БСА-індуковане імунотоксичне ушкодження супроводжується пригніченням мейотичного дозрівання ооцитів та зниженням експресії генів, а також розвитком генотоксичного стресу та переважанням некротичного типу клітинної загибелі в фолікулярних клітинах.

Роль ПАРП-1 у розвитку імуноопосередкованого ушкодження

Оскільки ПАРП-1 відіграє ключову роль у розпізнаванні ушкоджень ДНК і регуляції клітинної відповіді, досліджено вплив його фармакологічного інгібування на ушкодження ДНК і загибель клітин імунної та репродуктивної систем за умов імуноопосередкованого ушкодження. Встановлено, що фармакологічне інгібування ПАРП-1 у всіх досліджуваних моделях знижувало рівень ушкодження ДНК і відсоток клітин із вираженими та тяжкими порушеннями геному, що підтверджує цитопротективну ефективність цього підходу та його здатність зберігати інтегральну цілісність геному.

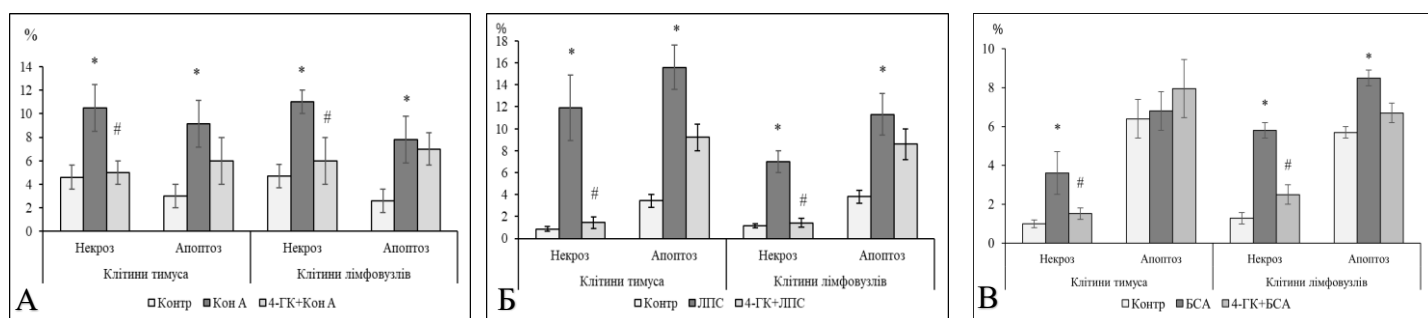
Застосування інгібіторів ПАРП-1 за умов дії КонА супроводжувалося зниженням рівня ушкодження ДНК у клітинах імунної системи. Зокрема, 4-ГК знижував ІДК у клітинах тимуса з $1,8 \pm 0,24$ до $0,39 \pm 0,06$, а 3-АБА до $0,83 \pm 0,13$ ($p < 0,01$); у клітинах лімфатичних вузлів ІДК зменшувався з $1,82 \pm 0,18$ до $0,56 \pm 0,18$ і $0,81 \pm 0,10$ відповідно ($p < 0,01$). Обидва інгібітори зменшували відсоток клітин тимуса з вираженими та тяжкими ушкодженнями ДНК (3–4 класи) та збільшували відсоток інтактних клітин (0 клас). При застосуванні 3-АБА також зростав відсоток клітин 1 класу, тоді як при введенні 4-ГК зміни були недостовірними; водночас 4-ГК знижував відсоток клітин 2 класу. У лімфатичних вузлах ефект був менш вираженим: зменшувався відсоток клітин 3–4 класів і зростав 0 клас, тоді як клітини 1–2 класів суттєво не змінювалися. Це свідчить про більш виражений протективний ефект інгібіторів ПАРП-1 у тимocyтах (Грушка, 2025).

За умов ЛПС-індукованої ендотоксемії інгібітори ПАРП-1 знижували рівень ушкодження ДНК у клітинах імунної системи, що проявлялося зменшенням ІДК у тимусі (з $2,35 \pm 0,11$ до $1,16 \pm 0,30$ при 4-ГК і до $1,61 \pm 0,25$ при 3-АБА; $p < 0,05$) та в лімфатичних вузлах (з $2,08 \pm 0,29$ до $0,78 \pm 0,18$ і $1,15 \pm 0,10$ відповідно; $p < 0,05$). Це супроводжувалося зниженням відсотка імунцитів із вираженими та тяжкими ушкодженнями ДНК (3–4 класи), збільшенням частки клітин 0-1 класу та зменшенням частки клітин 2 класу в тимусі й лімфатичних вузлах порівняно з дією ЛПС. Найбільш виражений ефект відзначався при застосуванні 4-ГК, що свідчить про зниження інтенсивності генотоксичного стресу в імунних органах за умов системної ендотоксемії (Grushka et al., 2019).

Оскільки 4-ГК демонстрував найбільш виражений протективний ефект, подальші дослідження були зосереджені саме на цьому інгібіторі. Після 6 тижнів впливу БСА відзначено зростання ІДК у клітинах тимуса і лімфовузлів, що свідчить про генотоксичний стрес. Введення 4-ГК достовірно знижувало ІДК у тимусі – з $2,8 \pm 0,2$ до $0,8 \pm 0,1$ ($p < 0,05$), у лімфатичних вузлах з $3,0 \pm 0,26$ до $1,8 \pm 0,2$ ($p < 0,01$). Також зменшувався відсоток клітин із вираженими та тяжкими (3-4 клас) і помірними (2 клас) ушкодженнями ДНК та зростав відсоток клітин з інтактною ДНК (0 клас) (Грушка, 2017).

Інтегральна цілісність геному тісно пов'язана з балансом між виживанням клітин та їх загибеллю, тому оцінено вплив інгібіторів ПАРП-1 на життєздатність імунцитів. Одноразове введення 4-ГК перед КонА забезпечувало виражений захист імунцитів від загибелі. У клітинах тимуса відсоток життєздатних клітин зростав із 79 ± 6 % у групі КонА до 88 ± 3 % у групі КонА + 4-ГК ($p < 0,01$). У клітинах лімфатичних вузлів цей показник зростав із $81,4 \pm 3,0$ % (КонА) до $86,3 \pm 2,6$ % (КонА + 4-ГК; $p < 0,05$). 4-ГК зменшував некротичну загибель клітин тимуса та лімфатичних вузлів з $10,8 \pm 4,1$ % до $4,9 \pm 2,1$ % ($p < 0,05$) та з $11,3 \pm 1,6$ % до $6,2 \pm 2,2$ % ($p < 0,01$) відповідно (рис. 13 А). Водночас апоптоз

суттєво не змінювався (Грушка, 2025; Grushka et al., 2014). За умов ЛПС-індукованої ендотоксемії при дії 4-ГК відсоток життєздатних клітин зростав у лімфатичних вузлах з $81,75 \pm 2,30 \%$ до $90,03 \pm 1,69 \%$ ($p < 0,05$) та у тимусі з $72,54 \pm 4,12 \%$ до $89,33 \pm 1,63 \%$ ($p < 0,05$). В обох органах вірогідно зменшувався відсоток некротичних клітин: у лімфатичних вузлах - з $7,0 \pm 1,39 \%$ до $1,41 \pm 0,39 \%$ ($p < 0,05$), а в тимусі з $11,89 \pm 3,09 \%$ до $1,43 \pm 0,57 \%$ ($p < 0,05$) (рис. 13 Б). За умов імунокомплексного ушкодження 4-ГК знижував відсоток некротичних клітин у лімфатичних вузлах з $5,83 \pm 0,46 \%$ до $2,50 \pm 0,52 \%$ ($p < 0,01$) та у тимусі з $3,55 \pm 0,99 \%$ до $1,57 \pm 0,30 \%$ ($p < 0,05$), тоді як апоптоз суттєво не змінювався (рис. 13 В) (Грушка, 2017). Отже, інгібування ПАРП-1 у всіх трьох моделях сприяло збереженню цілісності ДНК, зниженню рівня генотоксичного стресу та підвищенню життєздатності імуніцитів переважно за рахунок пригнічення некротичної загибелі, тоді як апоптоз суттєво не змінювався.



Вплив інгібування ПАРП-1 на активацію клітин вродженого імунітету

Інгібування ПАРП-1 за допомогою 4-ГК супроводжувалося послабленням активації клітин вродженого імунітету. У моделі БСА відзначено нормалізацію лейкограми зі зниженням відсотка паличкоядерних нейтрофілів (з $9,3 \pm 1,2 \%$ до $2,9 \pm 0,7 \%$; $p < 0,01$), а також зменшення генерації АФК (зниження показників НСТ-тесту з $69,2 \pm 4,0 \%$ до $39,6 \pm 5,3 \%$; $p < 0,01$) та зниження показників лізосомально-катіонного тесту (зниження цитохімічного коефіцієнта з $0,33 \pm 0,05$ до $0,11 \pm 0,01$; $p < 0,001$). За умов ЛПС-індукованої ендотоксемії знижувався відсоток паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, показники НСТ-тесту (у 1,5 раза; $p < 0,01$) та лізосомально-катіонного тесту (у 2,9 раза; $p < 0,01$). У моделі КонА інгібування ПАРП-1 зменшувало частку молодих форм нейтрофілів (з $28,4 \pm 6,6 \%$ до $16,6 \pm 1,8 \%$; $p < 0,05$), пригнічувало генерацію АФК (у 1,8 раза; $p < 0,05$) і знижувало вміст катіонних білків (у 1,8 раза; $p < 0,05$). У всіх моделях відзначалося зменшення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів: рівень МДА знижувався при КонА (з $13,18 \pm 3,15$ до $9,80 \pm 2,07$), ЛПС (з $56,9 \pm 3,9$ до $33,29 \pm 1,8$) та БСА (з $10,8 \pm 0,6$ до $7,05 \pm 1,1$) ($p < 0,05$). Таким чином, інгібування ПАРП-1 супроводжується зниженням функціонально-метаболічної активності нейтрофілів і послабленням окисдативного стресу, що свідчить про протизапальний ефект інгібування ПАРП-1.

Вплив інгібування ПАРП-1 на утворення і відкладання імунних комплексів

Імунізація БСА призводила до активації вродженого та адаптивного імунітету, що супроводжувалося зростанням вмісту ЦІК у крові та їх відкладанням у тканинах печінки, селезінки та аорти. Показано, що введення 4-ГК тваринам, яким вводили БСА, сприяло суттєвому зменшенню ЦІК у крові з $56,7 \pm 3,6$ у.о. до $36,4 \pm 2,9$ у.о. ($p < 0,01$).

Інгібування ПАРП-1 послаблювало відкладання імунних комплексів в тканинах: введення 4-ГК зменшувало відкладання імуноглобулінів у печінці (з $2,50 \pm 0,3$ до $0,7 \pm 0,3$ у.о.; $p < 0,05$), селезінці (з $3,25 \pm 0,3$ до $1,0 \pm 0,3$ у.о.; $p < 0,01$) та аорті (з $1,75 \pm 0,36$ до $0,44 \pm 0,2$ у.о.; $p < 0,05$) (рис. 14). Отже, за умов фармакологічного інгібування ПАРП-1 рівень ЦІК у крові та їх відкладання у тканинах значно зменшувалися, що підтверджує участь ПАРП-1 у розвитку гіперімунотоксичності.

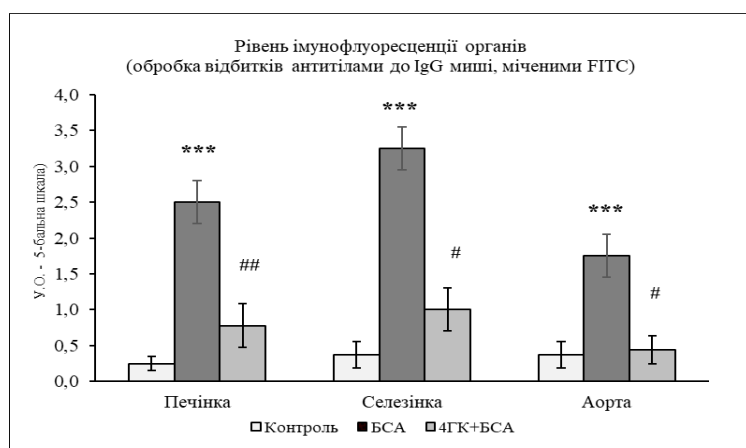


Рисунок 14. Інтенсивність імунофлуоресценції в печінці, селезінці та аорті мишей за умов імунокомплексного ушкодження, індукованого БСА та введення інгібітора ПАРП-1 – 4-ГК.

По осі ординат — умовні одиниці (у.о.) напівкількісної оцінки рівня депозитів імунних комплексів.

Примітка: *** $p < 0,001$ — порівняно з контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ — порівняно з групою БСА.

Активация ПАРП-1 в імунокомпетентних та оваріальних клітинах за умов імунокомплексного ушкодження

Оскільки ПАРП-1 відіграє ключову роль у клітинній відповіді на ушкодження ДНК, наступним етапом дослідження стала оцінка його активації методом імуноцитохімії в умовах БСА-індукованого імунокомплексного ушкодження. Активність ПАРП-1 у клітинах імунної та репродуктивної систем визначали за вмістом полі(АДФ-рибози) з використанням специфічних антитіл. Інтенсивність забарвлення оцінювали напівкількісно за 5-бальною шкалою з розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнта (СЦК). Встановлено, що за умов дії БСА відбувається виражена активація ПАРП-1 як у клітинах імунокомпетентних органів, так і в клітинах яєчника, що супроводжується підвищенням СЦК. У клітинах тимуса за умов імунокомплексного ушкодження СЦК підвищувався з $0,09 \pm 0,04$ до $0,23 \pm 0,01$ ($p < 0,01$). У клітинах лімфатичних вузлів СЦК зростав з $0,073 \pm 0,01$ до $0,22 \pm 0,03$ ($p < 0,001$). У фолікулярних клітинах СЦК зростав із $0,09 \pm 0,01$ до $0,31 \pm 0,03$ ($p < 0,01$). Застосування інгібітора ПАРП-1 4-ГК достовірно знижувало рівень активації ферменту в усіх досліджуваних тканинах. В тимусі з $0,23 \pm 0,01$ до $0,10 \pm 0,01$ ($p < 0,01$), в клітинах лімфатичних вузлів з $0,22 \pm 0,03$ до $0,11 \pm 0,01$ ($p < 0,01$), у фолікулярних клітинах з $0,31 \pm 0,03$ до $0,12 \pm 0,01$ ($p < 0,05$). Таким чином, за умов імунокомплексного ушкодження встановлено підвищення активності ПАРП-1 у клітинах тимуса, лімфатичних вузлів і яєчника, яке достовірно пригнічується інгібітором 4-ГК (Shepel et al., 2016).

Вплив інгібування ПАРП-1 на інтегральну цілісність геному, життєздатність кумулюсних клітин, мейотичне дозрівання ооцитів та експресію генів за умов дії БСА

На наступному етапі досліджено вплив інгібітора ПАРП-1 4-ГК на інтегральну цілісність геному кумулюсних клітин, їх життєздатність та шляхи загибелі (рис. 15 А). Встановлено, що за умов БСА-індукованого ушкодження відзначалося зростання відсотка клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями ДНК (3–4 класи) до $25 \pm 1,8 \%$ і $33 \pm 2,6 \%$ відповідно ($p < 0,01$) зі зменшенням відсотка клітин 0-1 класів до $28 \pm 2,6 \%$ ($p < 0,01$). Введення 4-ГК на тлі БСА сприяло зниженню відсотка клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями ДНК (3–4 класи) до $10 \pm 0,5 \%$ і $12 \pm 0,8 \%$ відповідно ($p < 0,05$) та збільшенню відсотка клітин 0-1 класів до $55 \pm 1 \%$ ($p < 0,05$), що свідчить про зменшення генотоксичного стресу.

Порушення інтегральної цілісності геному супроводжувалося зниженням життєздатності кумулюсних клітин з $73,7 \pm 3,7 \%$ до $56,7 \pm 2,9 \%$ та зростанням некротичної загибелі з $7,3 \pm 1,7 \%$ до $22,1 \pm 2,3 \%$, тоді як апоптоз змінювався незначно. Введення мишам 4-ГК призводило до позитивного ефекту на клітини кумулюсу. Відсоток живих клітин збільшився до $69,7 \pm 3,8 \%$, у той час як відсоток некротичних зменшувався порівняно з групою БСА до $9,1 \pm 2,5 \%$ (рис. 15 Б). Відсоток апоптотичних клітин вірогідно не змінювався. Отже, інгібування ПАРП-1 сприяло збереженню інтегральної цілісності геному та життєздатності кумулюсних клітин переважно за рахунок пригнічення їх некротичної загибелі, не впливаючи на апоптоз.

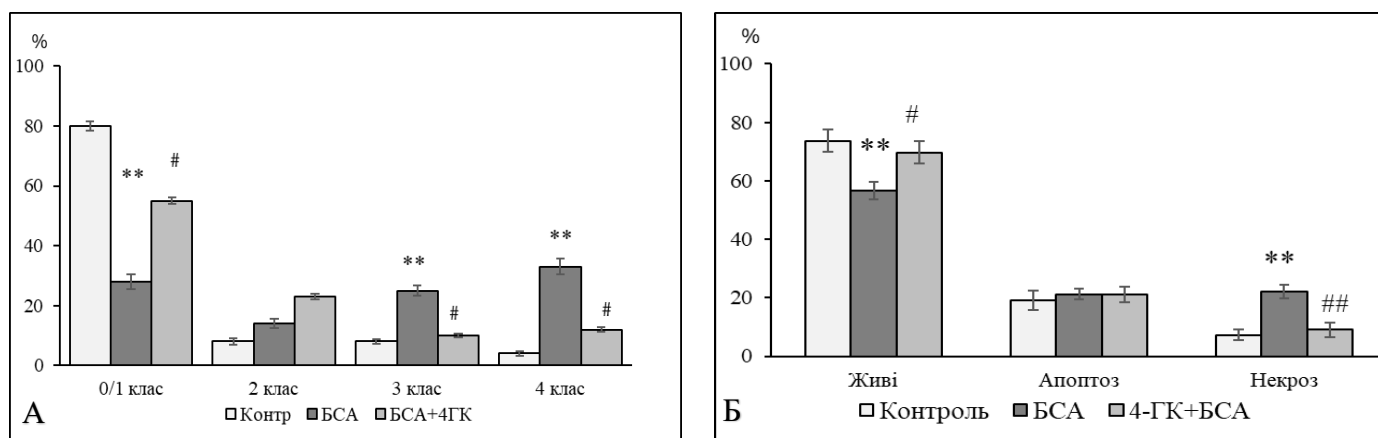


Рисунок 15. Вплив інгібітора ПАРП-1 4-ГК на розподіл кумулюсних клітин за ступенем ушкодження ДНК (А), їх життєздатність і шляхи загибелі (Б) за умов БСА-індукованого ушкодження.

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – порівняно з групою БСА.

Встановлено, що за умов БСА-індукованого ушкодження відбувалося порушення мейотичного дозрівання ооцитів. Відсоток ооцитів, що перебували в метафазі I та метафазі II, достовірно знижувався — відповідно з $88,0 \pm 4,0 \%$ до $72,0 \pm 3,0 \%$ ($p < 0,01$) та з $48,2 \pm 2,0 \%$ до $33,4 \pm 2,0 \%$ ($p < 0,05$). Введення 4-ГК на тлі БСА чинило позитивний вплив на мейотичне дозрівання ооцитів: відсоток клітин у метафазі I зростав до $86,0 \pm 4,0 \%$ ($p < 0,01$), а у метафазі II — до $45,11 \pm 2,0 \%$ ($p < 0,05$) порівняно з групою БСА (рис. 16 А).

За умов БСА-індукованого ушкодження в кумулюючих клітинах відзначалося зниження експресії генів HAS2, COX2 і GREM1. Введення 4-ГК достовірно підвищувало рівень мРНК генів COX2 та GREM1 порівняно з групою БСА, тоді як для HAS2 спостерігалася лише тенденція до зростання (близько 34 %), яка не досягала статистично значущого рівня (рис. 16 Б). Таким чином, інгібування ПАРП-1 сприяє зниженню вираженості порушень функції яєчників, індукованих БСА. Отримані результати свідчать, що 4-ГК не лише зменшує ушкодження ДНК у клітинах фолікулярного оточення, але й підтримує їхню функціональну активність, необхідну для забезпечення повноцінного дозрівання ооцитів (Shepel et al., 2016).

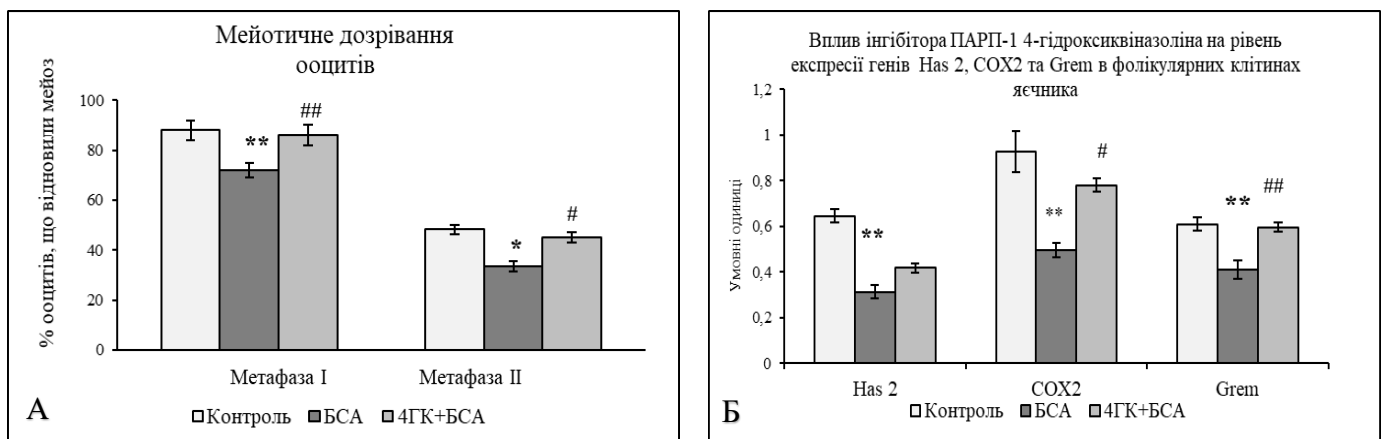


Рисунок 16. Вплив 4-ГК на відсоток ооцитів у метафазі I та метафазі II (А) та на рівень експресії генів GREM1, HAS2 і COX2 у кумулюючих клітинах мишей (Б) за умов БСА-індукованого ушкодження. Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – порівняно з групою БСА.

Отже, інгібування ПАРП-1 у репродуктивній системі зменшувало генотоксичний стрес, знижувало некротичну загибель кумулюючих клітин, підвищувало експресію генів COX2 і GREM1 та сприяло тенденції до підвищення експресії HAS2, що супроводжувалося достовірним покращенням мейотичного дозрівання ооцитів (Shepel et al., 2016). Наші результати узгоджуються з літературними даними, що розглядають експресію цих генів як індикатор мейотичної зрілості та якості ембріонального розвитку (Faizal et al., 2024; Ahmad et al., 2025). Ймовірно, одним із механізмів такого ефекту є зниження генотоксичного стресу та клітинної загибелі за умов інгібування ПАРП-1, що відповідає сучасним уявленням про його цитопротективну дію (Li et al., 2023; Liu et al., 2024). У подібних експериментальних моделях інгібітори ПАРП-1 проявляють цитопротективні ефекти щодо оваріальної тканини, пов'язані з антиоксидантними, протизапальними та антиапоптотичними механізмами (Li et al., 2023; Liu et al., 2024). Таким чином, фармакологічне інгібування ПАРП-1 є перспективним підходом до зниження генотоксичного стресу та підтримання гомеостазу імунної та репродуктивної систем.

Роль аларміну HMGB1 в імуноопосередкованому ушкодженні імунної системи

Некротична загибель відіграє важливу патогенетичну роль у розвитку імуноопосередкованих захворювань і супроводжується вивільненням алармінів, зокрема HMGB1 - ядерного білка, що за умов ушкодження діє як позаклітинний DAMP і активує запальну відповідь (Chen et al., 2022). Гліциризин - природний інгібітор HMGB1, чинить протизапальну та антиоксидантну дію і знижує вираженість запальних ушкоджень, що супроводжується зменшенням рівнів прозапальних цитокінів і зниженням вивільнення HMGB1 (Ren et al., 2023). Показано, що гліциризинат амонію (ГА), як похідне гліциризину, пригнічує активність HMGB1 та зменшує тяжкість запальних ушкоджень в експериментальних моделях ендотоксемії (Zhao et al., 2017).

За умов дії ЛПС відзначалося підвищення кількості клітин лімфовузлів із високим ступенем розривів ДНК (комети 3 і 4 класу) та зменшення кількості клітин із інтактною або мало ушкодженою ДНК (0–1 клас). В наших дослідженнях гліциризинат амонію чинив цитопротективний вплив на клітини лімфатичних вузлів, послаблюючи генотоксичний стрес, індукований ЛПС. Ефект мав чітко виражену дозозалежність. Доза 10 мг/кг не викликала значущих змін, тоді як 50–200 мг/кг супроводжувалися зменшенням відсотка клітин із тяжкими ушкодженнями ДНК у 2,3–10 разів (табл. 1).

Дослідження ступеня ушкодження ДНК у клітинах тимуса показало, що за умов ендотоксемії ГА сприяє зменшенню кількості тимоцитів із тяжким ушкодженням ДНК, що супроводжується зниженням генотоксичного стресу. Однак цей ефект був менш вираженим порівняно з дією препарату на периферичні органи імунної системи - лімфатичні вузли. Так, у групі ЛПС + ГА (100 мг/кг) у лімфатичних вузлах кількість комет із тяжким ступенем ушкодження ДНК зменшувалася приблизно у 3,7 раза, тоді як у тимусі у 1,9 раза (з $47,53 \pm 3,3$ до $24,67 \pm 4,2$). При цьому відсоток тимоцитів із мало ушкодженою ДНК (0–1 клас) зростав з $41,27 \pm 5,1$ до $71,27 \pm 3,5$ (Кондрацька та ін., 2020). Таким чином, ГА чинив виражений цитопротективний ефект на клітини лімфатичних вузлів та тимуса, що проявлялося у зниженні кількості клітин із тяжкими ушкодженнями ДНК та, відповідно, послабленні генотоксичного стресу.

Таблиця 1

Вплив гліциризинату амонію (ГА) на ступінь ушкодження ДНК лімфатичних клітин за умов експериментального введення ЛПС

Вплив	Ступінь ушкодження ДНК	
	Комети 0-1 класу (%)	Комети 3-4 класу (%)
Контроль	90,67±2,9	1,0±0,5
ЛПС	69,43±3,2***	22,0±3,5***
ЛПС+ ГА 10 мг/кг	65,33±3,6***	18,17±2,9
ЛПС+ ГА 50 мг/кг	83,17±1,1##	9,50±0,4###+
ЛПС+ ГА 100 мг/кг	88,43±2,6####	6,0±0,7#+
ЛПС+ ГА 200 мг/кг	92,17±3,8##	2,19±0,5#+

Примітка: ***p < 0,001 – порівняно з контролем; #p < 0,05; ##p < 0,01; ####p < 0,001 – порівняно з групою ЛПС; +p < 0,05 – при порівнянні між групами ЛПС + ГА.

Оскільки розвиток імунного запалення тісно пов'язаний із клітинною загибеллю, проаналізовано зміни життєздатності клітин лімфатичних вузлів при застосуванні ГА за умов ендотоксемії. Для дослідження були використані дози препарату (10, 50, 100 та 200 мг/кг). Введення ЛПС супроводжувалося різким зниженням відсотка живих лімфоцитів ($p < 0,001$), підвищенням відсотка клітин із ознаками апоптозу ($p < 0,05$) та вираженим зростанням некротичної загибелі ($p < 0,001$) (табл. 2). Застосування ГА у найменшій дозі (10 мг/кг) не впливало на показники загибелі клітин порівняно з групою ЛПС. Однак, введення препарату у дозах 50, 100 та 200 мг/кг достовірно підвищувало відсоток живих клітин. При дозах 50 і 100 мг/кг достовірно зменшувалася некротична загибель, а при 100 мг/кг також апоптоз. Найбільш виражений ефект спостерігався при застосуванні дози 100 мг/кг (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив ГА на життєздатність та загибель лімфатичних клітин за умов ЛПС-індукованої ендотоксемії

Вплив	Живі клітини (%)	Апоптоз (%)	Некроз (%)
Контроль	86,81±2,3	9,13±2,3	4,06±0,8
ЛПС	49,78±2,7***	19,89±3,0*	30,11±3,0***
ЛПС+ ГА 10 мг/кг	52,83±1,1*	19,65±2,6*	28,33±2,0**
ЛПС+ ГА 50 мг/кг	64,79±1,3***##	15,03±0,6	20,19±1,6***##
ЛПС+ ГА 100 мг/кг	67,71±1,9***###	12,29±0,8#	18,86±0,9***##
ЛПС+ ГА 200 мг/кг	63,60±2,9***##	13,60±1,0	22,80±2,3***

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ – порівняно з групою ЛПС.

Ці ефекти ймовірно пов'язані з антиоксидантною дією ГА, зокрема зі зниженням інтенсивності ПОЛ, рівня МДА та оксидативного стресу. Некротична загибель лімфоцитів сприяє вивільненню аутоантигенів, посилюючи запальні реакції, тоді як ГА обмежує ці процеси, що свідчить про його протективний потенціал у терапії захворювань, індукованих компонентами грамнегативних бактерій. Показано, що ПАРП-1-опосередкований некроз асоціюється з вивільненням HMGB1, тоді як позаклітинний HMGB1, посилюючи запальну відповідь та оксидативний стрес, може сприяти подальшій активації ПАРП-1, формуючи замкнене коло імунозапального ушкодження (Kang et al., 2014; Vitali et al., 2023). ПАРП-1 і HMGB1 сприяють активації NF-κB та посиленню експресії прозапальних цитокінів.

З'ясування NF-κB-опосередкованих механізмів ушкодження печінки Т-клітинного генезу в моделі КонА-індукованого гепатиту

NF-κB є одним із ключових транскрипційних факторів, що регулюють прозапальну відповідь при Т-клітинно-опосередкованому ушкодженні печінки. При активації NF-κB відбувається його транслокація з цитоплазми, де він перебуває в неактивному стані, до ядра клітин. Активацію NF-κB визначали за вмістом p65-субодиниці в ядерних екстрактах печінки методом імуноблотингу. Встановлено, що після введення КонА відбувається підвищення вмісту p65 у ядерній фракції з максимумом через 20 год. Денситометричний аналіз підтвердив достовірне зростання цього показника порівняно з контролем, що свідчить про активацію NF-κB у печінці (рис. 17).

Імуноцитохімічний аналіз підтвердив активацію NF-κB в печінці за умов її імуноопосередкованого ушкодження Т-клітинного генезу та дозволив оцінити його клітинну локалізацію. Показано, що через 20 год після введення КонА СЦК інтенсивності ядерного забарвлення p65 у гепатоцитах зростав з $0,06 \pm 0,02$ до $0,42 \pm 0,09$ ($p < 0,001$).

Виражена активація NF-κB була характерною також для клітин імунної системи. Значне зростання СЦК субодиниці p65 відзначалося як в імунocyтах, виділених з первинного органу імунітету - тимусу, так і в периферичних імунокомпетентних клітинах. Так, у тимусі СЦК підвищувався з $0,09 \pm 0,02$ до $0,35 \pm 0,05$ ($p < 0,001$), а в лімфатичних вузлах з $0,08 \pm 0,01$ до $0,23 \pm 0,03$ ($p < 0,001$) (рис. 18).

Встановлено, що інгібування ПАРП-1 за допомогою 4-ГК зменшує транслокацію p65-субодиниці NF-κB у ядро клітин печінки (рис. 17 А, Б) та знижує СЦК ядерного забарвлення (рис. 18), однак у клітинах печінки та лімфатичних вузлів показники залишалися вищими за контрольні значення.

Застосування інгібітора ПАРП-1 4-ГК призводило до послаблення активації NF-κB у тимоцитах та лімфоцитах пахових лімфатичних вузлів (рис. 18), причому в клітинах тимуса спостерігалася нормалізація СЦК до рівня контрольних значень. Це узгоджується з даними літератури, згідно з якими ПАРП-1 може виступати коактиватором NF-κB, сприяючи транскрипції прозапальних генів та підтриманню імунозапальної відповіді. У наших експериментальних умовах інгібування ПАРП-1 супроводжувалося обмеженням ядерної транслокації p65-субодиниці NF-κB у клітинах імунної системи та печінки, що узгоджується зі зменшенням інтенсивності запальних процесів.

Таким чином, КонА-індуковане ушкодження печінки супроводжується вираженою системною активацією NF-κB, тоді як інгібування ПАРП-1 призводить до її часткового пригнічення, що вказує на участь ПАРП-1 у регуляції NF-κB-опосередкованих механізмів імуноопосередкованого ушкодження. Отримані нами результати на моделі КонА-індукованого гепатиту підтверджують сучасні уявлення про ПАРП-1 та NF-κB-опосередковані механізми розвитку запалення (Hu et al., 2025). Між активацією ПАРП-1 та NF-κB існує тісний функціональний зв'язок; ПАРП-1 виступає як транскрипційний коактиватор NF-κB, посилюючи синтез прозапальних молекул, зокрема IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-γ, ICAM-1, селектинів, MIP-1, MIP-2, iNOS та COX-2 (Hassa et al., 2001; Hu et al., 2025). Це створює позитивний зворотний зв'язок через NF-κB-опосередковану експресію iNOS, що сприяє посиленню оксидативного та нітрозативного стресу, подальшому ушкодженню ДНК та активації ПАРП-1.

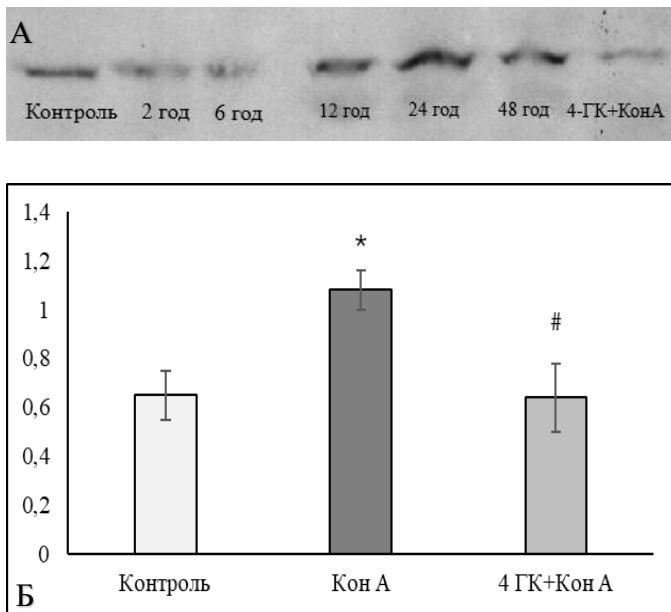


Рисунок 17. Вміст NF-κB (p65) у ядерних екстрактах печінки мишей через 20 год після введення КонА та за умов інгібування ПАРП-1 (4-ГК) (імуноблотинг).

А — репрезентативне зображення імуноблоту ядерних екстрактів печінки (контроль, КонА, 4 - ГК + КонА; 65 кДа).

Б — відносний вміст p65 у ядерній фракції печінки за даними денситометричного аналізу (у.о.), виражений як відношення інтенсивності смуги p65 до позитивного контролю.

Примітка: * $p < 0,05$ — порівняно з контролем; # $p < 0,05$ — порівняно з групою КонА.

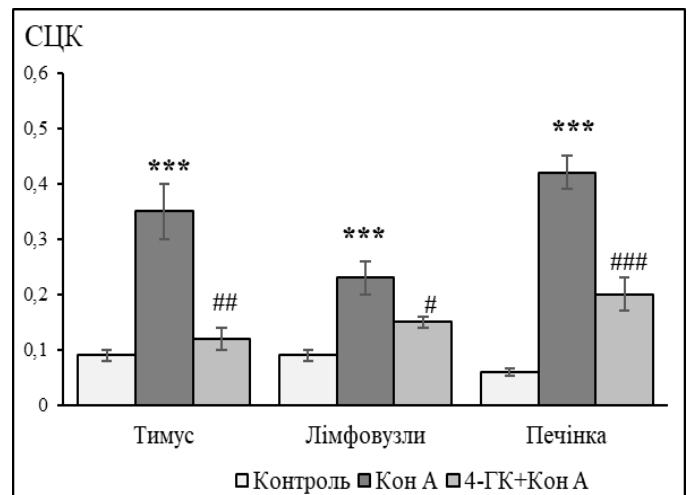


Рисунок 18. Вплив 4-ГК на вміст NF-κB (p65) у ядрах клітин тимуса, лімфатичних вузлів та печінки через 20 год після введення КонА (за даними імуноцитохімії з використанням антитіл до p65-субодиниці NF-κB).

По осі ординат — СДК інтенсивності забарвлення ядер клітин.

Примітка: *** $p < 0,001$ — порівняно з контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ — порівняно з групою КонА.

Вплив модуляторів сигнального шляху (куркуміну та андрографоліду) на життєздатність і шляхи загибелі імунокомпетентних клітин за умов КонА-індукованого гепатиту

З урахуванням встановленої активації NF-κB при КонА-індукованому ушкодженні, досліджено вплив його фармакологічного інгібування на життєздатність і шляхи загибелі імунокомпетентних клітин. Для цього використано природні інгібітори NF-κB – куркумін та андрографолід (АНД), які чинять багатоспрямований протизапальний вплив, зокрема через модулювання активності NF-κB та інших сигнальних шляхів.

Встановлено, що введення КонА супроводжувалося зниженням відсотка життєздатних клітин і підвищенням їх некротичної та апоптотичної загибелі. Застосування куркуміну при КонА-індукованому гепатиті призводило до значного зменшення загибелі клітин тимуса і лімфатичних вузлів, викликаного КонА, що супроводжувалося тенденцією до зростання відсотка живих клітин (табл. 3). Протективний ефект куркуміну за умов КонА-індукованого гепатиту проявлявся переважно у зменшенні некротичної загибелі клітин, тоді як рівень апоптозу достовірно не змінювався.

Таблиця 3

Вплив куркуміну на відсоток живих, некротичних і апоптотичних клітин імунотетентних органів за умов КонА-індукованого гепатиту

Група	Орган	Живі клітини (%)	Некроз (%)	Апоптоз (%)
Контроль	Тимус	90,5±0,7	3,8±0,7	5,9±0,8
КонА		69,8±3,4***	6,3±0,7*	23,9±3,2***
КонА+куркумін		76,3±4,4***	2,4±0,8##	21,2±4,4***
Контроль	Лімфатичні вузли	87,2±1,8	5,0±0,6	7,8±1,3
КонА		71,6±1,1***	9,7±0,5***	18,8±1,4***
КонА+куркумін		74,6±1,3***	7,3±0,7*#	18,1±0,9***

Примітка: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – порівняно з групою КонА.

У наступній серії експериментів показано, що через 20 год після введення КонА відсоток живих клітин знижувався з $91 \pm 1,5$ % до 75 ± 12 % ($p < 0,05$), тоді як рівні некрозу та апоптозу зростали відповідно з $3,8 \pm 0,59$ % до $12,0 \pm 2,0$ % і з $5,8 \pm 1,0$ % до $13,0 \pm 1,8$ % ($p < 0,05$), що свідчить про активацію обох механізмів клітинної загибелі. Застосування андрографоліду на тлі КонА-індукованого ушкодження призводило до відновлення відсотка неушкоджених клітин до $92,0 \pm 0,58$ % ($p < 0,05$ порівняно з групою КонА) та послаблювало клітинну загибель за рахунок зменшення як некрозу, так і апоптозу. Так, відсоток некротичних клітин знижувався до $5,0 \pm 0,68$ % (порівняно з $12,0 \pm 2,0$ %; $p < 0,05$), а апоптотичних до $2,36 \pm 0,5$ % (порівняно з $13,0 \pm 1,8$ %; $p < 0,05$) (рис. 19), при цьому більш виражений ефект відзначено щодо апоптозу.

Отримані дані свідчать про залучення NF- κ B до механізмів клітинної загибелі при КонА-індукованому ушкодженні та про цитопротективний ефект андрографоліду і куркуміну. Куркумін і андрографолід пригнічують активацію NF- κ B різними молекулярними механізмами. Зокрема, куркумін блокує деградацію I κ B α (інгібітора, зв'язаного з NF- κ B в цитоплазмі клітини), що перешкоджає транслокації NF- κ B у ядро (ELBini-Dhouib et al., 2022). Натомість АНД ковалентно модифікує відновлений цистеїн субодиниці p50 NF- κ B, унаслідок чого блокується зв'язування цього транскрипційного фактора з ДНК (Li et al., 2022).

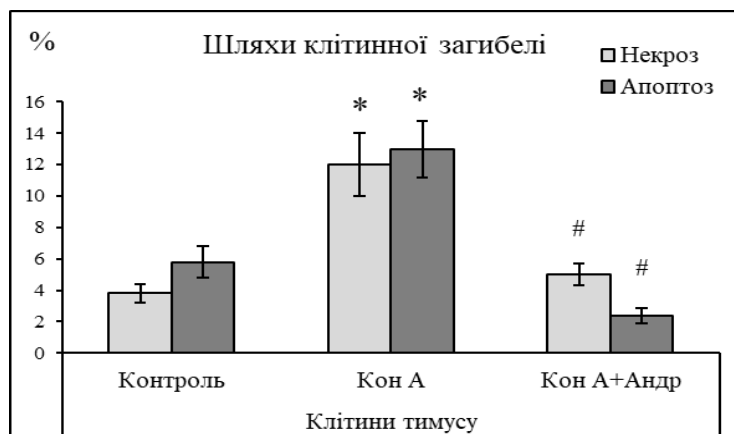


Рисунок 19. Вплив андрографоліду на відсоток некротичних і апоптотичних клітин тимуса за умов КонА-індукованого гепатиту.

Примітка: * $p < 0,05$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з групою КонА.

Вплив андрографоліду на активацію NF-κB у печінці за умов КонА-індукованого гепатиту

З урахуванням встановленої активації NF-κB при КонА-індукованому ушкодженні печінки (рис. 17, 18) було доцільним дослідити вплив андрографоліду на рівень ядерної транслокації p65-субодиниці NF-κB у тканині печінки. Проведеними дослідженнями з використанням методу імуноблотингу встановлено транслокацію NF-κB в ядра клітин печінки, що свідчить про його активацію. Застосування АНД за умов дії КонА призводило до зменшення ядерної локалізації p65 NF-κB ($p < 0,05$ за даними денситометричного аналізу), що свідчить про пригнічення його активації (рис. 20) (Макогон та ін., 2012).

Отримані дані свідчать, що АНД знижує ядерну транслокацію p65-субодиниці NF-κB, тим самим пригнічуючи його активацію в тканині печінки при КонА-індукованому імуноопосередкованому ушкодженні, зумовленому надмірною активацією Т-клітинної ланки імунної системи.

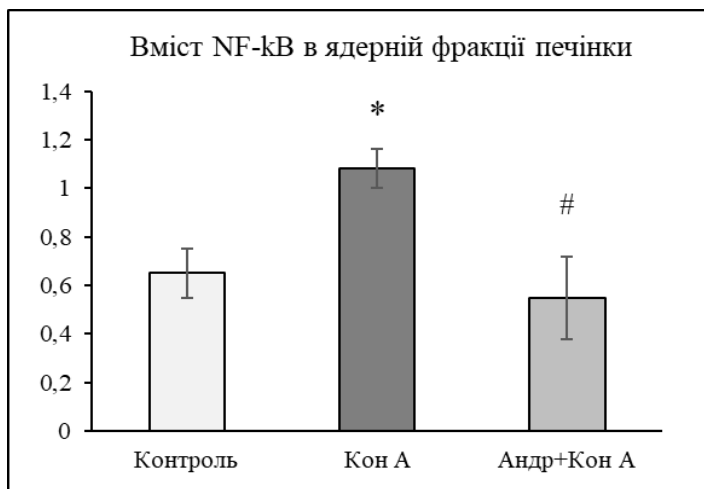


Рисунок 20. Вплив андрографоліду на вміст NF-κB в ядерних екстрактах печінки мишей за умов КонА-індукованого гепатиту (імуноблотинг).

По осі ординат – дані денситометричного аналізу (у.о.), виражені як відношення інтенсивності смуги p65 до позитивного контролю.

Примітка: * $p < 0,001$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з групою КонА.

Показано, що за умов КонА-індукованого ушкодження печінки відбувається посилення транслокації NF-κB з цитоплазми до ядер клітин, що свідчить про його активацію та залучення до реалізації імунозапального процесу. Застосування інгібіторів ПАРП-1 (4-ГК) та NF-κB (андрографоліду) супроводжувалося зменшенням ядерної локалізації p65, що вказує на пригнічення активації NF-κB. При цьому, 4-ГК знижував ядерний вміст p65 у клітинах печінки, тимуса та лімфатичних вузлів через 20 год після введення КонА, що свідчить про системний вплив інгібування ПАРП-1. Інгібування NF-κB і ПАРП-1 супроводжувалося підвищенням виживання клітин та зменшенням некротичної й апоптотичної загибелі. При цьому андрографолід знижував обидва типи клітинної загибелі, тоді як 4-ГК переважно некротичну.

Таким чином, NF-κB і ПАРП-1 відіграють ключову роль у розвитку імунозапального ушкодження печінки, зокрема через посилення некротичної загибелі клітин. Їх фармакологічне інгібування чинить протизапальну та антинекротичну дію і може розглядатися як перспективний підхід до фармакологічної корекції імуноопосередкованих ушкоджень.

Вплив кверцетину на інтегральну цілісність геному та функціональний стан імунокомпетентних клітин за умов ЛПС-індукованої ендотоксемії

Встановлено, що імуноопосередковане ушкодження імунокомпетентних та оваріальних клітин супроводжується активацією ПАРП-1 і NF-κB, посиленням фрагментації ДНК, переважанням некротичної загибелі клітин, вивільненням аларміну (зокрема HMGB1) та розвитком оксидативного стресу, що формує порочне коло самопідсилення запальної реакції. З огляду на це перспективним є застосування сполук, здатних модулювати зазначені процеси, зокрема антиоксидантів і наноструктурованих агентів, які впливають на АФК-залежні механізми та сигнальні шляхи, пов'язані з NF-κB.

У моделі ЛПС-індукованої ендотоксемії оцінено вплив кверцетину на інтегральну цілісність геному та шляхи клітинної загибелі ІКК. Введення ЛПС тваринам спричиняло виражене зростання генотоксичного стресу в клітинах тимуса та лімфатичних вузлів, що проявлялося збільшенням частки клітин із помірними та вираженими (2 та 3 клас) ушкодженнями ДНК та зменшенням відсотка клітин 0–1 класу (Грушка та ін., 2026).

Профілактичне введення кверцетину зменшувало відсоток клітин із помірними (2 клас) та вираженими (3 клас) ушкодженнями ДНК і збільшувало відсоток інтактних клітин та клітин з мінімальними ушкодженнями (0–1 клас) як у тимусі, так і в лімфатичних вузлах, що свідчить про його виражений захисний ефект. У групі контролю з кверцетином показники суттєво не відрізнялися від інтактного контролю (рис. 21 А, Б).

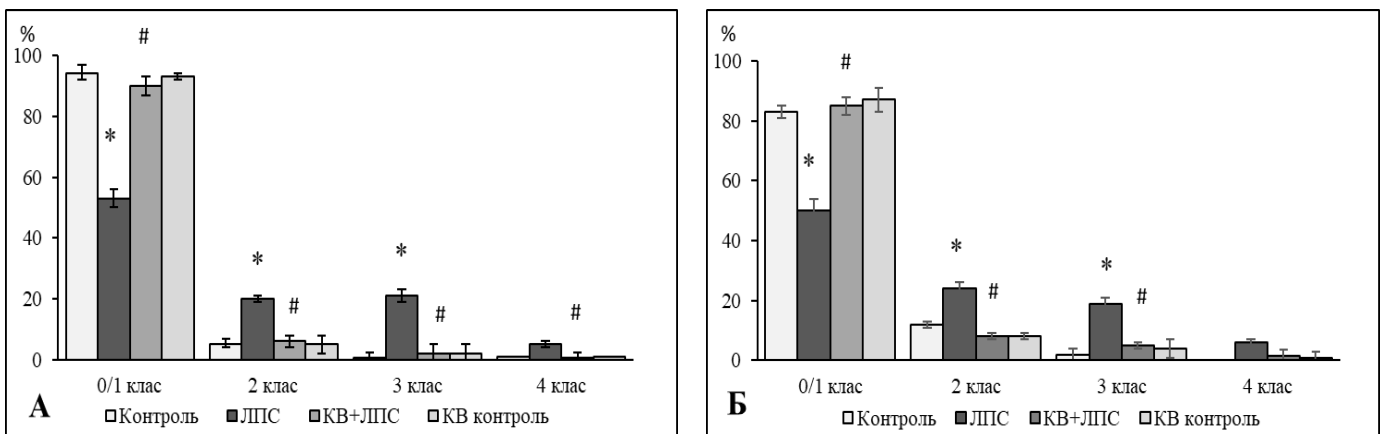


Рисунок 21. Вплив профілактичного введення кверцетину на ступінь ушкодження ДНК клітин тимуса (А) та лімфатичних вузлів (Б) за умов ЛПС-індукованої ендотоксемії.

Примітка: * $p < 0,05$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з групою ЛПС.

З метою комплексної оцінки цитопротективного ефекту кверцетину досліджено життєздатність і шляхи клітинної загибелі. Введення ЛПС спричиняло достовірне зниження відсотка живих тимоцитів з $90,69 \pm 2,16$ % до $45,05 \pm 7,27$ % ($p < 0,001$) за рахунок підвищення як апоптозу ($20,82 \pm 8,45$ % проти $4,00 \pm 1,81$ %), так і некрозу ($25,23 \pm 7,23$ % проти $5,10 \pm 0,93$ %, $p < 0,05$). Аналогічні зміни спостерігалися у клітинах лімфатичних вузлів: відсоток живих клітин знижувався з $75,12 \pm 5,01$ % до $46,67 \pm 4,52$ % ($p < 0,001$) на тлі зростання апоптозу ($20,02 \pm 2,04$ % проти $9,87 \pm 1,89$ %) і некрозу ($32,11 \pm 4,51$ % проти $14,88 \pm 5,63$ %, $p < 0,05$).

Профілактичне введення кверцетину зменшувало клітинну загибель. У тимусі це проявлялося відновленням відсотка живих клітин до $79,60 \pm 3,59$ % та зниженням некрозу до $9,40 \pm 0,93$ % ($p < 0,05$ порівняно з ЛПС), тоді як апоптоз мав лише тенденцію до зниження (рис. 22 А). У клітинах лімфатичних вузлів кверцетин достовірно знижував апоптоз (до $10,14 \pm 1,65$ %, $p < 0,05$), тоді як зменшення некрозу було менш вираженим (до $21,29 \pm 3,00$ %) (рис. 22 Б) (Грушка та ін., 2026). Отже, профілактичне застосування кверцетину за умов дії ліпополісахариду сприяло зменшенню рівня одноланцюгових розривів ДНК та підтриманню структурної цілісності імунотетентних клітин, а також знижувало рівень їх загибелі у тимусі та лімфатичних вузлах. При цьому цитопротективний ефект мав виражений органоспецифічний характер: у тимусі переважно зменшувалися прояви некрозу, тоді як у лімфатичних вузлах - апоптозу.

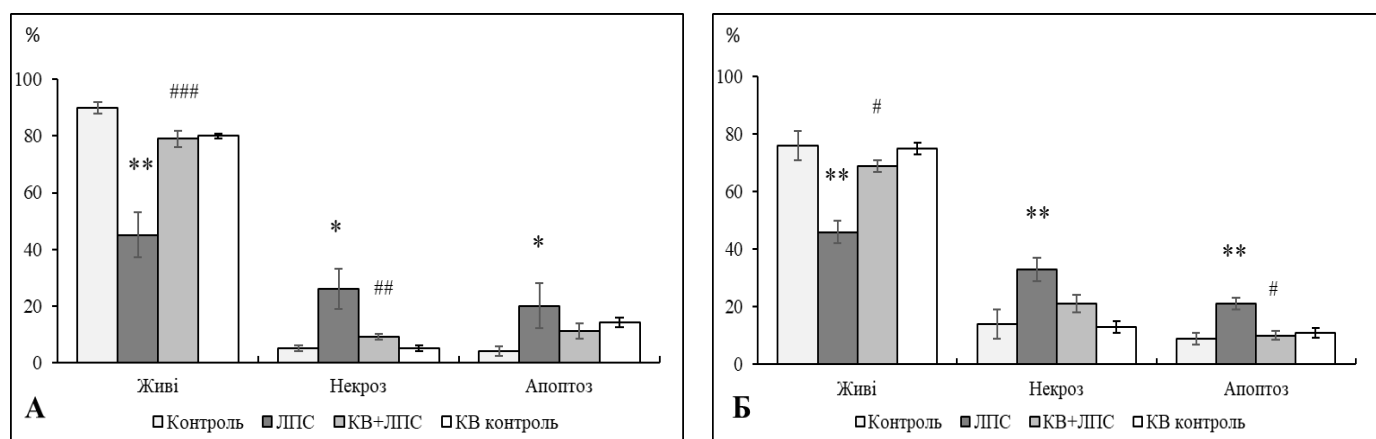


Рисунок 22. Вплив профілактичного введення кверцетину за умов ЛПС-індукованої ендотоксемії на життєздатність та шляхи загибелі клітин тимуса (А) та лімфатичних вузлів (Б).

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контролем, # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – порівняно з групою ЛПС.

Вплив наночастинок срібла на інтегральну цілісність ДНК та функціональний стан імунотетентних клітин за умов імунотетентного ушкодження

Оцінено вплив наночастинок срібла (НЧС) на цілісність ДНК і функціональний стан клітин імунної систем за умов БСА-індукованого ушкодження. За умов введення БСА відзначалося виражене ушкодження ДНК у клітинах тимуса: зменшувався відсоток клітин 0–2 класів та різко зростав відсоток клітин 3–4 класів, що свідчить про розвиток генотоксичного стресу. Введення НЧС на тлі дії БСА супроводжувалося зменшенням ушкодження ДНК: збільшувався відсоток клітин 0–2 класів і знижувався відсоток клітин із вираженими ушкодженнями (3 класу), аж до відсутності клітин 4 класу (табл. 4). Аналогічні зміни встановлено і в клітинах лімфатичних вузлів: за цих умов БСА-індукованого ушкодження зменшувався відсоток клітин із мінімальними ушкодженнями (0–1 класів) та зростав відсоток клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями (3–4 класів), тоді як показники 2 класу істотно не змінювалися. Введення НЧС супроводжувалося нормалізацією показників: зростав відсоток клітин 0–1 класів і зменшувався відсоток клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями (табл. 5).

Таблиця 4

Зміни ступеня ушкодження ДНК клітин тимуса за умов БСА-індукованого імунокомплексного ушкодження та при введенні наночастинок срібла (НЧС)

Група тварин	0–1 клас (%)	2 клас (%)	3 клас (%)	4 клас (%)
Контроль	70,17±1,72	15,67±1,03	8,83±0,75	5,33±1,03
БСА	9,00±0,91*	8,00±0,31*	37,50±0,58*	45,50±1,26*
БСА+НЧС	72,15±6,21#	22,18±2,14#	5,67±0,46#	0,00#

Примітка: * $p < 0,01$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з групою БСА.

Водночас введення НЧС інтактним тваринам не спричиняло ушкодження ДНК ні в клітинах тимуса, ні в лімфатичних вузлах, а супроводжувалося збільшенням відсотка клітин із інтактною та мінімально ушкодженою ДНК (0–1 класів) і зменшенням відсотка клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями, аж до відсутності клітин 4 класу, що свідчить про відсутність генотоксичної дії та потенційний стабілізуючий вплив НЧС на геном. Отже, наночастинок срібла чинять виражений цитопротективний ефект, сприяючи збереженню інтегральної цілісності ДНК клітин імунної системи за умов імунокомплексного ушкодження.

Таблиця 5

Зміни ступеня ушкодження ДНК клітин лімфатичних вузлів за умов БСА-індукованого імунокомплексного ушкодження та при введенні наночастинок срібла (НЧС)

Група тварин	0–1 клас (%)	2 клас (%)	3 клас (%)	4 клас (%)
Контроль	65,13±7,94	12,05±1,2	14,97±1,39	7,85±0,62
БСА	6,65±0,39*	15,33±3,96	41,00±6,16*	37,02±2,43*
БСА+НЧС	61,45±5,26#	20,76±1,91	13,84±1,12#	3,94±2,75#

Примітка: * $p < 0,05$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з групою БСА.

Крім генотоксичних змін, введення БСА супроводжувалося вираженим порушенням клітинного гомеостазу та посиленням процесів клітинної загибелі. За умов поєднання введення БСА та НЧС відзначалася часткова нормалізація показників клітинної життєздатності. Відсоток живих клітин зростав до $85,85 \pm 1,73$ %, що свідчить про зменшення пригнічення загальної кількості життєздатних клітин порівняно з групою БСА. Водночас відсоток клітин з ознаками апоптозу знижувався до $11,60 \pm 1,24$ %, а некрозу до $2,55 \pm 1,26$ %, що вказує на більш виражений вплив НЧС на некротичну загибель (рис. 23 А).

Аналогічні зміни встановлено в лімфатичних вузлах. БСА знижував життєздатність до $60,25 \pm 3,07$ % (проти $84,21 \pm 1,61$ % у контролі) і підвищував апоптоз та некроз до $25,42 \pm 2,16$ % і $14,33 \pm 0,95$ % відповідно (у контролі - $10,29 \pm 0,91$ % і $5,50 \pm 0,48$ %). Це свідчить

про вищу чутливість клітин лімфатичних вузлів до імунокомплексного ушкодження. На тлі введення НЧС при дії БСА відзначалося відновлення життєздатності клітин лімфатичних вузлів: відсоток живих клітин зростав до $82,72 \pm 4,58 \%$, тоді як відсоток клітин з морфологічними ознаками апоптозу і некрозу зменшувався відповідно до $15,17 \pm 1,26 \%$ і $2,11 \pm 0,18 \%$ (рис. 23 Б). Введення НЧС інтактним тваринам не супроводжувалося достовірними змінами життєздатності клітин тимуса, що свідчить про відсутність власної цитотоксичної дії НЧС за фізіологічних умов.

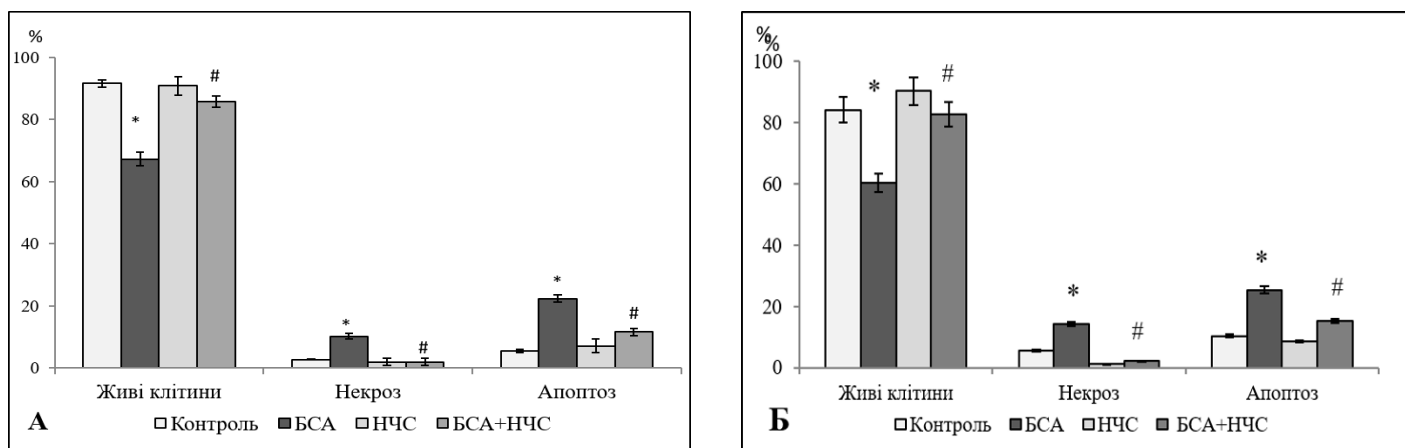


Рисунок 23. Вплив наночастинок срібла (НЧС) на життєздатність та шляхи загибелі клітин тимуса (А) і лімфатичних вузлів (Б) за умов експериментального імунокомплексного ушкодження.

Примітка: * $p < 0,05$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з групою БСА.

Введення БСА спричиняло виражене ушкодження ДНК імунокомпетентних клітин, що проявлялося зростанням відсотка клітин 3–4 класів і зменшенням клітин 0–1 класів. За умов поєднання з НЧС відзначалося зниження відсотка клітин із вираженими та тяжкими ушкодженнями та збільшення відсотка клітин з відсутніми, мінімальними та помірними ушкодженнями ДНК, що свідчить про зменшення генотоксичного стресу. В інтактних тварин НЧС сприяли збереженню інтегральної цілісності геному. Поряд із цим, БСА знижував життєздатність клітин тимуса та посилював клітинну загибель, тоді як застосування НЧС сприяло відновленню життєздатності та зменшенню клітинної загибелі. У літературі показано, що наночастинок можуть індукувати оксидативний стрес, ушкодження ДНК та апоптоз у клітинах імунної та репродуктивної систем (Babonaité et al., 2024; Mohamed et al., 2022; Samrot et al., 2023). Водночас їх біологічні ефекти мають виражений дозо- та контекст-залежний характер і можуть варіювати від цитотоксичних до цитопротективних, що визначається умовами експерименту та функціональним станом організму (Lytvynenko et al., 2017; Voznesenska et al., 2018). Отримані в роботі результати узгоджуються з цими даними та свідчать про здатність НЧС за умов імуноопосередкованого ушкодження зменшувати генотоксичний стрес і клітинну загибель, що вказує на їх потенційний модулюючий ефект. Отже, НЧС проявляють виражений цитопротективний ефект, знижуючи ушкодження ДНК і обмежуючи передусім некротичну загибель клітин.

Вплив наночастинок срібла на мейотичне дозрівання ооцитів та функціонування клітин фолікулярного оточення за умов імунокомплексного ушкодження

За умов імунокомплексного ушкодження, індукованого БСА, відбувається посилення загибелі клітин фолікулярного оточення ооцитів: відсоток живих клітин зменшується до $70,92 \pm 1,06$ % порівняно з $91,25 \pm 1,04$ % у контролі; відсоток клітин з морфологічними ознаками апоптозу і некрозу збільшується відповідно до $21,25 \pm 1,75$ % і $7,83 \pm 0,60$ % порівняно з $7,00 \pm 0,71$ % і $1,75 \pm 0,52$ % в контролі. Введення НЧС не призводить до вірогідних змін відсотка живих клітин, а також клітин з морфологічними ознаками апоптозу і некрозу. Введення НЧС за умов дії БСА призводить до покращення параметрів життєздатності досліджуваних клітин, зокрема, відсоток живих зростає до $87,13 \pm 1,43$ % порівняно з $70,92 \pm 1,06$ % у групі БСА, а відсоток клітин з морфологічними ознаками апоптозу і некрозу зменшується відповідно до $11,31 \pm 1,33$ % і $1,56 \pm 0,56$ % порівняно з $21,25 \pm 1,75$ % і $7,83 \pm 0,60$ % у групі БСА.

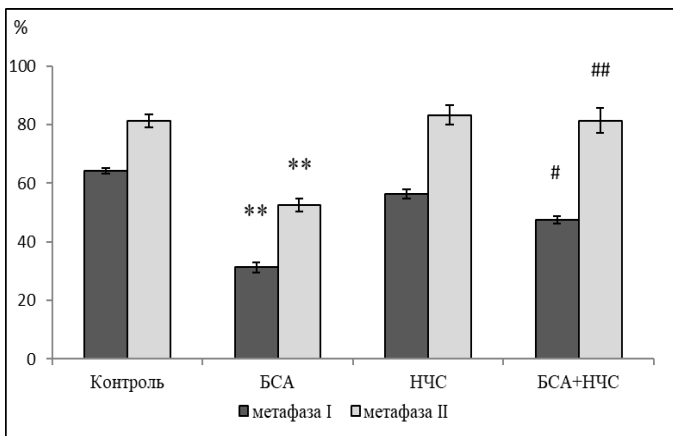


Рисунок 24. Вплив НЧС на мейотичне дозрівання ооцитів мишей за умов імунокомплексного ушкодження БСА.

Примітка: ** $p < 0,01$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ – порівняно з групою БСА.

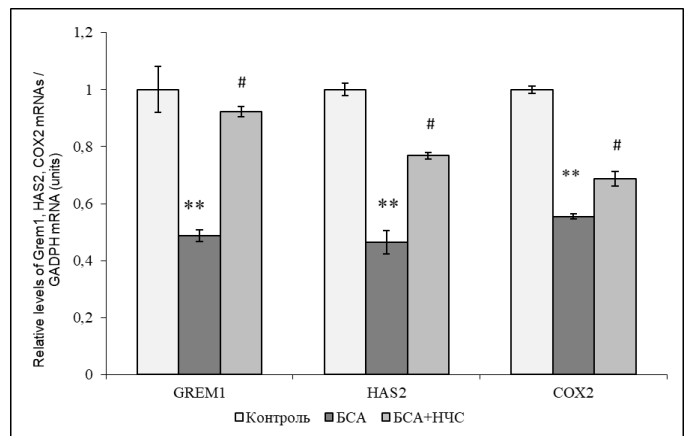


Рисунок 25. Вплив НЧС на рівень експресії генів HAS2, COX2 і GREM1 у кумулюсних клітинах мишей за умов імунокомплексного ушкодження БСА.

Примітка: ** $p < 0,01$ – порівняно з контролем; # $p < 0,05$ – порівняно з БСА.

Введення БСА пригнічувало мейотичне дозрівання ооцитів: відсоток ооцитів на стадії метафази I знижувався до $31,25 \pm 1,66$ % (проти $64,29 \pm 0,96$ % у контролі), а метафази II — до $52,63 \pm 2,17$ % (проти $81,25 \pm 2,13$ %). За умов імунізації БСА застосування НЧС покращувало ці показники: відсоток ооцитів на стадії метафази I зростав до $47,37 \pm 1,30$ %, а метафази II — до $81,33 \pm 4,28$ % (рис. 24). Водночас НЧС підвищували експресію генів HAS2, COX2 і GREM1 у кумулюсних клітинах у 1,65; 1,24 та 1,9 раза відповідно (рис. 25). Отримані результати свідчать, що імунокомплексне ушкодження супроводжується зниженням життєздатності кумулюсних клітин і пригніченням мейотичного дозрівання ооцитів. Введення НЧС сприяє зменшенню відсотка апоптотичних та некротичних клітин, підвищує їх життєздатність і покращує дозрівання ооцитів на стадіях відновлення мейозу та формування першого полярного тільця, що свідчить про їх цитопротективний ефект.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Отримані в дисертаційній роботі експериментальні дані та їх аналіз підтверджують, що надмірна активація імунної відповіді, яка супроводжується підвищенням рівня прозапальних цитокінів, генерацією АФК та залученням медіаторів запалення, може відігравати ключову роль у формуванні системних ушкоджень як в імунній, так і в репродуктивній системах. Результати проведених досліджень свідчать, що імуноопосередковане ушкодження супроводжується порушенням функціонального стану імунокомпетентних клітин (клітин тимуса та лімфатичних вузлів), а також оваріальних клітин, при цьому одним із провідних механізмів розвитку цих порушень є посилення оксидативного стресу. Встановлено, що показники життєздатності клітин і рівня ушкодження ДНК є надійними маркерами для оцінки інтенсивності імуноопосередкованого ушкодження, а також ефективності протективного впливу.

Односпрямовані зміни ступеня ушкодження ДНК та зниження життєздатності досліджуваних клітин свідчать про спільність молекулярних механізмів, що лежать в основі надмірної імунної активації, які реалізуються як на рівні центральних та периферичних органів імунної системи, так і в оваріальній тканині. Це обґрунтовує можливість оцінювання ушкодження клітин репродуктивної системи за показниками функціонального стану імунокомпетентних клітин, які у перспективі можуть бути отримані мінімально інвазивним шляхом, з метою виявлення генотоксичного стресу, а також для прогнозування ефективності терапевтичних втручань, зокрема при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій. Основними механізмами порушення функціонування імунних та оваріальних клітин при активації імунної відповіді є посилення оксидативного стресу, ушкодження ДНК та порушення її інтегральної цілісності, активація ядерного ферменту ПАРП-1, транскрипційного фактора NF-κB, вивільнення HMGB1, а також індукція клітинної загибелі.

Незалежно від природи первинного ураження, ПАРП-1 активується у відповідь на ушкодження ДНК. За умов розвитку помірного стресу цей фермент бере участь у репарації ДНК і підтриманні клітинного гомеостазу. Однак надмірна його активація спричиняє прогресуюче посилення запального процесу через два основні механізми: активацію NF-κB із подальшим синтезом прозапальних цитокінів та індукцію некротичної клітинної загибелі, що супроводжується вивільненням DAMP-молекул (зокрема HMGB1), які посилюють імунну відповідь. Обидва механізми спричиняють активацію клітин-ефекторів запалення, продукцію активних форм кисню, що призводить до розвитку оксидативного стресу, який ще більше ушкоджує ДНК і посилює активацію ПАРП-1. Це формує порочне коло самопідсилення запалення, яке лежить в основі хронічного імуноопосередкованого ушкодження. Відсутність ефективних засобів регуляції цього запального процесу ускладнює терапію запальних і імуноопосередкованих захворювань, що обґрунтовує актуальність пошуку нових терапевтичних підходів, зокрема із застосуванням інгібіторів ПАРП-1, антиоксидантів, наноматеріалів та природних сполук, таких як флавоноїди.

Проведеними дослідженнями встановлено, що застосування інгібіторів ПАРП-1 (3-амінобензаміду, 4-гідроксиквіназоліну), антиоксидантів (кверцетину, етилметилгідроксипіридин сукцинату), наночастинок срібла та цитрату германію сприяє зменшенню імуноопосередкованого ушкодження. При цьому відбувається зниження рівня

ушкоджень ДНК, зменшення частоти розвитку некрозу і апоптозу, пригнічення активності NF- κ B та вивільнення HMGB1, зменшення продукції АФК, а також підвищення життєздатності клітин. Застосовані сполуки покращують морфофункціональний стан оваріальних клітин, сприяють мейотичному дозріванню ооцитів та можуть бути використані для профілактики репродуктивних порушень, зумовлених надмірною активацією імунної відповіді. Таким чином, отримані результати експериментально обґрунтовують нові підходи до оцінки, профілактики та корекції патологічних станів, асоційованих із надмірною імунною активацією та генотоксичним стресом, зокрема репродуктивних порушень, і можуть стати підґрунтям для розробки ефективних терапевтичних стратегій.

Одержані результати досліджень, проведених на трьох експериментальних моделях імуноопосередкованого ушкодження (БСА, КонА, ЛПС), а також аналіз літератури, присвячений досліджуваній проблемі, стали основою для запропонованої нами узагальнюючої схеми (рис. 26). Запропонована схема дозволяє пояснити особливості функціонування імунокомпетентних та оваріальних клітин за умов надмірної активації імунної відповіді, а також обґрунтовує доцільність застосування модуляторів клітинної загибелі та антиоксидантів як засобів цілеспрямованого впливу для корекції імуноопосередкованого ушкодження. Вона може слугувати концептуальною основою для подальших досліджень функціонування клітин імунної та репродуктивної систем за умов надмірної імунної активації, а також для розробки нових підходів до цільової терапії імунозапальних і репродуктивних порушень.

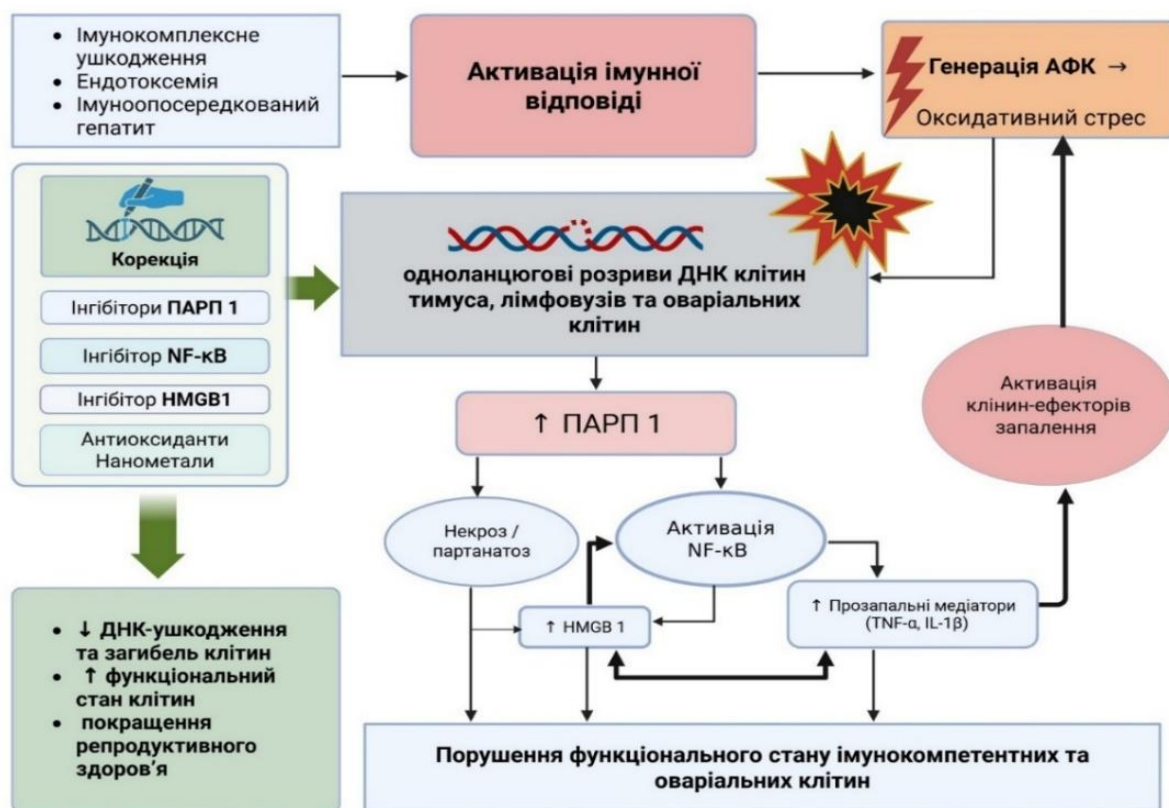


Рисунок 26. Молекулярні механізми самопідсилення імуноопосередкованого запалення за умов надмірної імунної відповіді із залученням сигнальної осі ПАРП-1/HMGB1/NF- κ B.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі встановлено механізми функціонування імунокомпетентних та оваріальних клітин за умов надмірної активації імунної відповіді. Визначено роль основних медіаторів запалення: полі(АДФ-рибозо)полімерази-1 (ПАРП-1), NF-κB та білка високої рухливості групи 1 (HMGB1, відомого як амфотерин), у порушенні інтегральної цілісності ДНК та зміні функціонального стану клітин.

1. Відтворені та адаптовані експериментальні моделі імуноопосередкованого ушкодження (БСА, КонА, ЛПС) забезпечили комплексну активацію вродженої, клітинної та гуморальної ланок імунної відповіді та адекватно відтворили характерні зміни, притаманні запальним процесам. За цих умов встановлено розвиток оксидативного та генотоксичного стресу, що проявлявся вираженим порушенням інтегральної цілісності ДНК, накопиченням клітин із тяжкими ушкодженнями ДНК, зниженням життєздатності клітин переважно за некротичним шляхом загибелі, а також вираженими морфофункціональними змінами в органах імунної та репродуктивної систем. Показано, що зазначені зміни супроводжувалися надмірною функціонально-метаболічною активацією клітин вродженого імунітету, активацією ПАРП-1 і NF-κB та вивільненням алармінів, що сприяло формуванню порочного кола самопідсилення запалення, подальшому прогресуванню генотоксичних порушень і посиленню клітинної загибелі.

2. За умов моделювання імунокомплексного ушкодження встановлено активацію ядерного ферменту ПАРП-1 в імунокомпетентних клітинах тимуса й лімфатичних вузлів, а також у кумулюсних клітинах яєчника. Надмірна активація ПАРП-1 у цих клітинах призводила до накопичення ушкоджень ДНК, переважання імуногенного некрозу як основного типу загибелі та значного посилення запальної відповіді. Застосування інгібіторів ПАРП-1 (4-гідроксиквіназоліну та 3-амінобензаміду) призводило до зниження рівня ушкодження ДНК (зменшення відсотка клітин із вираженим пошкодженням), а також зменшення відсотка клітинної загибелі. Введення 4-гідроксиквіназоліну на тлі дії БСА запобігало утворенню та фіксації імунних комплексів у тканинах, що супроводжувалося зменшенням запалення та підтверджувало ключову роль ПАРП-1 у розвитку імунокомплексних захворювань. Крім того, інгібітор ПАРП-1 - 4-гідроксиквіназолін сприяв нормалізації експресії генів HAS2, COX2 та GREM1 у кумулюсних клітинах, що супроводжувалося збільшенням відсотка ооцитів, які відновили мейоз і досягли стадії метафази II. За умов дії Кон А та ЛПС також встановлено виражену цитопротективну дію інгібування ПАРП-1, яка проявлялася зменшенням ушкодження ДНК, пригніченням активації прозапальних медіаторів та запобіганням розвитку некротичної клітинної загибелі, перериваючи формування порочного кола самопідсилення запалення.

3. Встановлено, що за умов розвитку оксидативного стресу *in vitro*, індукованого перекисом водню та гіпохлорит-аніоном, клітини тимуса та лімфатичних вузлів зазнавали значного ушкодження ДНК та втрати їх життєздатності переважно за некротичним типом загибелі. Інгібітори ПАРП-1 (3-амінобензамід і 4-гідроксиквіназолін) виявляли цитопротективну дію, достовірно зменшуючи рівень некрозу та генотоксичного ушкодження без істотного впливу на рівень апоптозу.

4. Експериментальне імуноопосередковане ушкодження супроводжувалося достовірним підвищенням рівня ТБК-реактивних продуктів у печінці мишей, що свідчило про активацію перекисного окиснення ліпідів та посилення оксидативного стресу. Застосування інгібітора ПАРП-1 4-гідроксиквіназоліну сприяло нормалізації прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, що підтверджувалося зниженням інтенсивності ПОЛ у тканинах. Протективна дія 4-гідроксиквіназоліну також проявлялася у зниженні функціональної активності клітин-ефекторів запалення, насамперед нейтрофілів. Зниження їх киснезалежного метаболізму свідчило про зменшення генерації активних форм кисню. Водночас спостерігалось зниження рівня киснезалежної активності, зокрема вивільнення катіонних білків, залучених до ушкодження тканин. Сукупність отриманих даних свідчить про послаблення ефекторної активності нейтрофілів, що є одним із ключових механізмів протизапальної дії інгібування ПАРП-1.

5. Амфотерин (NMGB1) сприяє розвитку генотоксичного стресу та некротичної загибелі імунокомпетентних клітин у моделі ЛПС-індукованої ендотоксемії. Інгібування NMGB1 за допомогою гліциризинату амонію призводило до достовірного зниження рівня ушкодження ДНК, зменшення відсотка клітин із тяжкими формами ушкодження та пригнічення некротичної загибелі, що супроводжувалося підвищенням їх життєздатності.

6. На моделі КонА-індукованого Т-клітинного ушкодження печінки встановлено виражену активацію ядерного транскрипційного фактора NF-κB в клітинах імунної системи. Інгібування ПАРП-1 за допомогою 4-гідроксиквіназоліну призводило до зниження рівня активації NF-κB, індукованої КонА. Таким чином, активація NF-κB є одним із ключових механізмів імуноопосередкованого ушкодження печінки, який ефективно пригнічується інгібуванням ПАРП-1.

7. Імуномодулятори, зокрема антиоксиданти та наноструктуровані сполуки, чинять позитивний вплив на функціональний стан імунокомпетентних та оваріальних клітин за умов імунокомплексного ушкодження. Їх застосування сприяло вірогідному зниженню відсотка клітин із максимальним ступенем ушкодження ДНК та збільшенню відсотка клітин без ушкоджень генетичного матеріалу. Антиоксиданти забезпечували збереження життєздатності клітин тимуса, лімфатичних вузлів і оваріальних клітин, зменшуючи відсоток клітин з морфологічними ознаками некрозу й апоптозу. Встановлено покращення параметрів мейотичного дозрівання ооцитів, зокрема підвищення відсотка ооцитів на стадіях метафази I та метафази II, а також підвищення рівнів експресії мРНК генів HAS2, COX2 і GREM1 у кумулюсних клітинах.

Надмірна активація імунної відповіді призводить до зниження якості ооцитів. Ключовими механізмами є розвиток оксидативного та генотоксичного стресу, порушення цілісності ДНК і зниження життєздатності клітин. Визначальну роль у цих процесах відіграють ПАРП-1, NF-κB та NMGB1 (амфотерин). Інгібітори ПАРП-1, антиоксиданти і наноструктуровані сполуки знижують ушкодження ДНК, апоптоз і некроз, сприяючи збереженню функціональної активності клітин і дозріванню ооцитів. Отримані результати обґрунтовують доцільність модуляції сигнальних шляхів ПАРП-1/NF-κB/NMGB1 для профілактики і корекції імунозапальних і репродуктивних порушень.

АНОТАЦІЯ

Грушка Н.Г. Механізми функціонування імунокомпетентних та оваріальних клітин при активації імунної відповіді. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин – Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця Національної академії наук України, Київ, 2026.

Дисертаційна робота присвячена вивченню механізмів дисфункції імунокомпетентних та оваріальних клітин за умов імунної гіперактивації. Надмірна імунна активація супроводжується надлишковою продукцією цитокінів, активних форм кисню та азоту, дисрегуляцією клітинних транскрипційних факторів і гіперактивацією ПАРП-1 - ключового ферменту репарації ДНК, що призводить до розвитку генотоксичного стресу, ушкодження ДНК і клітинної загибелі. Ці порушення зумовлюють зниження репродуктивного потенціалу та імунної резистентності. У роботі використано комплекс сучасних методів, зокрема культивування ооцитів, метод ДНК-комет, флуоресцентне мікроскопічне забарвлення, імуноцитохімічне дослідження, визначення продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), НСТ-тест, ПЛР-аналіз, імуноблотинг (Western-blot) та статистичні методи обробки результатів.

За умов імуноопосередкованого ушкодження, змодельованого за допомогою БСА, КонА та ЛПС, встановлено розвиток оксидативного та генотоксичного стресу, ушкодження ДНК, активацію NF-κB та вивільнення DAMP-молекул (HMGB1). Показано, що імуноопосередковане ушкодження супроводжується підвищенням відсотка клітин із вираженим ушкодженням ДНК, активацією механізмів клітинної загибелі з переважанням некрозу та прозапальних сигнальних шляхів, зокрема NF-κB. Ці зміни супроводжуються порушенням функціонального стану імунокомпетентних органів і погіршенням якості оваріальних клітин. У моделі БСА спостерігалася фіксація ЦІК у печінці, селезінці та аорті, ураження судин і активація вродженого імунітету, порушення мейотичного дозрівання ооцитів і зміни експресії генів HAS2, COX2 і GREM1, які є маркерами функціональної активності кумулюючих клітин та регуляції мейотичного дозрівання ооцитів. У моделі КонА відзначалося Т-клітинно-опосередковане ушкодження печінки з розвитком некрозу та апоптозу і активацією ПАРП-1 та NF-κB. У моделі ЛПС переважали системні прояви ендотоксемії, інтенсивний оксидативний стрес, активація клітин вродженого імунітету та залучення DAMP-молекул, зокрема HMGB1, до підтримання запальної відповіді.

За умов імунокомплексного ушкодження відбувається гіперактивація ПАРП-1, що супроводжується розвитком некрозу, тоді як застосування його інгібітора 4-гідроксиквіназоліну знижує ступінь ушкодження ДНК і відсоток некротичних клітин, виявляючи виражений цитопротективний ефект. В яєчнику за умов дії БСА встановлено активацію ПАРП-1, що супроводжується зниженням життєздатності кумулюючих клітин, посиленням апоптозу та некрозу, а також дисрегуляцією експресії генів мейотичного дозрівання, що супроводжувалося суттєвим зниженням якості ооцитів. За умов імуноопосередкованого ушкодження, індукованого ЛПС, показано участь амфотерину (HMGB1) у підтриманні запальної відповіді та генотоксичного стресу, оскільки його інгібування призводило до зменшення ушкодження ДНК і відсотка некротичних клітин. Досліджено роль NF-κB у регуляції імуноопосередкованої запальної відповіді. Показано

транслокацію NF-κB до ядра гепатоцитів та імунних клітин, що свідчить про його провідну роль у Т-клітинно-опосередкованому ушкодженні. Встановлено, що 4-ГК та андрографолід пригнічують активацію NF-κB, зменшуючи ядерну локалізацію p65, крім того, андрографолід і куркумін проявляють цитопротективну дію та зменшують клітинну загибель.

Антиоксидантні сполуки та наноматеріали здатні коригувати клітинні порушення при імуноопосередкованому ушкодженні, знижуючи ступінь ушкодження ДНК, обмежуючи некротичну загибель клітин та покращуючи функціональний стан імунних і оваріальних клітин, життєздатність гранулярних клітин і якість ооцитів.

У дисертаційній роботі вперше комплексно охарактеризовано роль ПАРП-1, HMGB1 (амфотерину) та NF-κB у розвитку імуноопосередкованих ушкоджень імунокомпетентних та оваріальних клітин. Встановлено взаємозв'язок між ступенем ушкодження ДНК, рівнем оксидативного стресу та типом клітинної загибелі. Обґрунтовано доцільність фармакологічної корекції цих процесів шляхом модуляції сигнальних шляхів ПАРП-1/HMGB1/NF-κB. Показано, що така корекція знижує ушкодження ДНК, оксидативний стрес і некротичну загибель клітин та сприяє збереженню їх функціональної активності. Обґрунтовано використання показників ушкодження ДНК, активності ПАРП-1 і оксидативного стресу як ранніх маркерів клітинної дисфункції.

Ключові слова: імуноопосередковане ушкодження, імунокомпетентні клітини, оваріальні клітини, інтегральна цілісність ДНК, ПАРП-1, амфотерин (HMGB1), NF-κB, оксидативний стрес, генотоксичний стрес, клітинна загибель, мейотичне дозрівання, антиоксиданти, наноматеріали.

ABSTRACT

Grushka N.G. Mechanisms of functioning of immunocompetent and ovarian cells during immune response activation. – A qualifying scientific work presented as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences in the specialty 03.00.13 - Human and Animal Physiology – O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2026.

The dissertation focuses on the mechanisms underlying dysfunction of immunocompetent and ovarian cells under conditions of immune hyperactivation. Excessive immune activation is accompanied by overproduction of cytokines, reactive oxygen and nitrogen species, dysregulation of transcription factors, and hyperactivation of PARP-1, a key DNA repair enzyme, leading to genotoxic stress, DNA damage, and cell death. These disturbances result in decreased reproductive potential and impaired immune resistance. The present study employed a comprehensive set of modern methods, including in vitro oocyte culturing, the DNA comet assay, fluorescent microscopic staining, immunocytochemical analysis, determination of lipid peroxidation (LPO) products, the nitroblue tetrazolium (NBT) test, PCR analysis, immunoblotting (Western blotting), and statistical analysis of the obtained results.

Under conditions of immune-mediated injury induced by BSA, ConA, and LPS, the development of oxidative and genotoxic stress, DNA damage, activation of NF-κB, and the release of DAMP molecules (HMGB1) were demonstrated. It was shown that immune-mediated injury is accompanied by an increased percentage of cells with DNA damage, activation of cell

death pathways with a predominance of necrosis, and activation of pro-inflammatory signaling pathways, particularly NF- κ B. These alterations are associated with impaired functional status of organs of the immune system and reduced quality of ovarian cells. In the BSA model, deposition of circulating immune complexes (CICs) was observed in the liver, spleen, and aorta, along with vascular damage, activation of innate immunity, impaired meiotic maturation of oocytes, and altered expression of HAS2, COX2, and GREM1 genes, which are markers of cumulus cell functional activity and regulators of oocyte meiotic maturation. In the ConA model, T cell-mediated liver injury was characterized by the development of necrosis and apoptosis, accompanied by activation of PARP-1 and NF- κ B. In the LPS model, systemic manifestations of endotoxemia predominated, including pronounced oxidative stress, activation of innate immune cells, and involvement of DAMP molecules, particularly HMGB1, in sustaining the inflammatory response.

Under conditions of immune complex-mediated injury, PARP-1 hyperactivation occurs and is accompanied by the development of necrosis, whereas the use of the PARP-1 inhibitor 4-hydroxyquinazoline reduces the degree of DNA damage and the percentage of necrotic cells, demonstrating a pronounced cytoprotective effect. In the ovary, under BSA exposure, activation of PARP-1 was also observed, which was associated with decreased viability of granulosa cells, increased apoptosis and necrosis, and dysregulation of genes involved in meiotic maturation, resulting in a significant decline in oocyte quality. Under LPS-induced immune-mediated injury, the involvement of amphotericin (HMGB1) in maintaining the inflammatory response and genotoxic stress was demonstrated, as its inhibition reduced DNA damage and the percentage of necrotic cells. The role of NF- κ B in the regulation of the immune-mediated inflammatory response was investigated. Nuclear translocation of NF- κ B in hepatocytes and immune cells was demonstrated, indicating its key role in T cell-mediated injury. It was established that 4-hydroxyquinazoline and andrographolide suppress NF- κ B activation by reducing the nuclear localization of p65; in addition, andrographolide and curcumin exert cytoprotective effects and reduce cell death.

Antioxidant compounds and nanomaterials are capable of correcting cellular dysfunction in immune-mediated injury by reducing the extent of DNA damage, limiting necrotic cell death, and improving the functional state of immune and ovarian cells, as well as granulosa cell viability and oocyte quality.

In this dissertation, the roles of PARP-1, amphotericin and NF- κ B in the development of immune-mediated damage to immunocompetent and ovarian cells were comprehensively characterized for the first time. A relationship between the degree of DNA damage, the level of oxidative stress, and the type of cell death was established. The feasibility of pharmacological correction of these processes through modulation of PARP-1/HMGB1(amphotericin)/NF- κ B signaling pathways was substantiated. It was shown that such correction reduces DNA damage, oxidative stress, and necrotic cell death, while preserving cellular functional activity. The use of DNA damage indices, PARP-1 activity, and oxidative stress parameters as early markers of cellular dysfunction was also substantiated.

Key words: immune-mediated injury, immunocompetent cells, ovarian cells, DNA integrity, PARP-1, amphotericin (HMGB1), NF- κ B, oxidative stress, genotoxic stress, cell death, meiotic maturation, antioxidants, nanomaterials.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Статті у виданнях, включених до наукометричної бази Scopus

1. Shepel E, **Grushka N**, Makogon N, Sribna V, Pavlovych S, Yanchii R. Changes in DNA integrity and gene expression in ovarian follicular cells of lipopolysaccharide-treated female mice. *Pharmacol Rep.* 2018 Dec;70(6):1146-1149. DOI: 10.1016/j.pharep.2018.06.005. Epub 2018 Jun 20. PMID: 30317130. **Scopus (Q2)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень, узагальненні отриманих результатів)*.
2. Makogon N, Voznesenskaya T, Bryzgina T, Sukhina V, **Grushka N**, Alexeyeva I. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, 3-aminobenzamide, protects against experimental immune ovarian failure in mice. *Reprod Biol.* 2010 Nov;10(3):215-26. DOI: 10.1016/s1642-431x(12)60041-2 PMID: 21113202. **Scopus (Q2)**. *(Особистий внесок здобувача: виконано частину експериментальних досліджень; участь в аналізі та статистичній обробці отриманих результатів)*.
3. Kondratska O, **Grushka N**, Pavlovych S, Krasutska N, Tsyhankov S, Yanchii R. Effects of Poly (ADP-ribose) Polymerase Inhibition on DNA Integrity and Gene Expression in Ovarian Follicular Cells in Mice with Endotoxemia. *Iran Biomed J.* 2022 Jan 1;26(1):44-52. DOI: 10.52547/ibj.26.1.44. PMID: 34826885; PMCID: PMC8784896. **Scopus (Q3)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у виконанні експериментальних досліджень, проведенні аналізу та узагальненні результатів)*.
4. Voznesenskaya T., Makogon N., Bryzgina T., Sukhina V., **Grushka N.**, Alexeyeva I. Melatonin protects against experimental immune ovarian failure in mice // *Reproductive Biology*. – 2007. – Vol. 7, No. 3. – P. 207–220. – PMID: 18059973. **Scopus (Q3)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у виконанні частини експериментальних досліджень; участь у статистичній обробці отриманих результатів)*.
5. Blashkiv T.V., Stupchuk M.S., Sribna V.A., Kaleynykova O.M., **Grushka N.G.**, Voznesenska T.Yu. Resumption of meiotic maturation of oocytes, pre- and post-implantational embryonic mortality under conditions of experimental glomerulonephritis and treatment of silver nanoparticles. *Nano Biomedicine and Engineering*. – 2018. – Vol. 10, No. 4. – P. 355–361. – DOI:10.5101/nbe.v10i4.p355-361. **Scopus (Q3)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у виконанні частини експериментальних досліджень; участь у статистичній обробці отриманих результатів)*.
6. Макогон НВ, Павлович СІ, Бризгіна ТМ, Алексюк ЛІ, Сухіна ВС, **Грушка НГ**, Алексєєва ІМ. Проліферація та загибель моноклеарних клітин печінки мишей за умов її імунного ураження, викликаного введенням конканаваліну А або протипечінкових антитіл. *Фізіологічний журнал*. 2008;54(6):49-57. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: виконано частину експериментальних досліджень; проведено аналіз та статистичну обробку отриманих результатів)*.
7. **Грушка НГ**, Павлович СІ, Бризгіна ТМ, Сухіна ВС, Макогон НВ, Янчій РІ. Генотоксичний стрес і шляхи загибелі клітин тимуса та лімфовузлів мишей за умов системної імунокомплексної патології. *Фізіол журн*. 2015;61(1):28–34. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz61.01.028>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: формування ідеї дослідження, виконання експериментальної частини, аналіз та опрацювання отриманих результатів, їх узагальнення і підготовка до публікації)*.

8. Павлович СІ, Макогон НВ, **Грушка НГ**, Бризгіна ТМ, Янчій РІ. Морфологічні зміни у печінці мишей за умов конканавалін А-індукованого гепатиту. *Фізіол журн.* 2016;62(1):83-91. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz62.01.083>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у формуванні ідеї дослідження та виконанні експериментальних досліджень; участь у проведенні аналізу та узагальненні результатів; участь у підготовці рукопису статті)*.
9. **Грушка НГ**, Павлович СІ, Кондрацька ОА, Пількевич НО, Янчій РІ. Протективна дія цитрату германію на функціональний стан імунокомпетентних клітин та активність нейтрофілів при запаленні, індукованому ліпополісахаридом. *Фізіол журн.* 2019;65(6):43-50. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz65.06.043>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: сформовано ідею дослідження; виконано частину експериментальних досліджень; участь у проведенні аналізу, статистичної обробки та узагальненні отриманих результатів; підготовлено рукопис статті)*.
10. Кондрацька ОА, **Грушка НГ**, Павлович СІ, Янчій РІ. Корируючий вплив цитрату германію на репродуктивну функцію самок старих мишей. *Фізіол журн.* 2023;69(2):37-43. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz69.02.037>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень)*.
11. Кондрацька ОА, **Грушка НГ**, Мешко ВВ, Павлович СІ, Янчій РІ. Функціональна активність ядерного протеїну амфотерину та його роль у розвитку ендотоксемії. *Фізіол журн.* 2023;69(6):120-132. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz69.06.120>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: участь в аналізі та узагальненні літературних даних, підготовці рукопису статті)*.
12. Павлович СІ, **Грушка НГ**, Кондрацька ОА, Красуцька НО, Антонюк ВМ, Мешко ВВ, Янчій РІ. Гістоструктурні зміни в імунокомпетентних органах, печінці та легенях за умов експериментальної ендотоксемії, індукованої ліпополісахаридом. *Фізіол журн.* 2024;70(5):66-71. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz70.05.066>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень, проведенні аналізу та узагальненні результатів, підготовці рукопису статті)*.
13. Kondratska OA, **Grushka NG**, Pavlovych SI, Meshko V.V., Yanchii RI. Germanium citrate improves ovarian granulosa cells viability and antioxidant defense system in aging female mice during endotoxemia. *Fiziol Zh.-* 2024; 70 (3): 59-64. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz70.03.059>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень)*.
14. **Грушка НГ**. Вплив 4-гідроксиквіназоліну та 3-амінобензаміду на ступінь ушкодження ДНК в імунокомпетентних клітинах за умов гепатиту, індукованого конканаваліном А. *Фізіол журн.* 2025;71(5):56-64. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz71.05.056>. **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: робота виконана автором самостійно)*.
15. **Грушка НГ**, Павлович СІ, Кондрацька ОА, Андрійчук П, Янчій РІ. Вплив кверцетину на інтегральну цілісність ДНК і життєздатність імунокомпетентних клітин за умов ендотоксемії у мишей. *Фізіол журн.* 2026; 72(3):18-25. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz72.03.018> **Scopus (Q4)**. *(Особистий внесок здобувача: участь у формуванні ідеї дослідження, виконанні експериментальних досліджень; у проведенні аналізу та узагальненні результатів; підготовлено рукопис статті)*.

Статті, опубліковані у наукових фахових виданнях, включених до Переліку МОН України, що відображають основні результати дисертації

1. Вознесенська Т.Ю., Макогон Н.В., Бризгіна Т.М., Сухіна В.С., **Грушка Н.Г.**, Алексєєва І.М. Шляхи загибелі фолікулярних клітин яєчника у мишей при порушенні оогенезу імунного походження. Фізіологічний журнал. 2006;52(3):52–56. ISSN 0201-8489 *(Особистий внесок здобувача: виконано частину експериментальних досліджень, участь в обговоренні отриманих результатів)*.
2. Бризгіна ТМ, Сухіна ВС, **Грушка НГ**, Макогон НВ. Морфологічні прояви апоптотичної загибелі клітин лімфовузлів і тимуса мишей при застосуванні конканаваліну А. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2007;(2):44-47. doi:10.11603/1811-2471.2007.v0.i2.347. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень; проведено аналіз, статистичну обробку та узагальнення результатів)*.
3. Павлович СІ, Литвиненко АП, Макогон НВ, Мартинова ТВ, Бризгіна ТМ, Янчій РІ, Сухіна ВС, **Грушка НГ**, Шепель ОА, Вознесенська ТЮ, Блашків ТВ, Гетьманець ОВ. Імуноморфологічна характеристика моделі системної патології імунокомплексного генезу у мишей. Вісник морфології. 2014;20(2):496-500. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень; проведено аналіз та узагальнення результатів)*.
4. Шепель ОА, Блашків ТВ, Вознесенська ТЮ, **Грушка НГ**, Янчій РІ. Гени, пов'язані з передчасним виснаженням яєчників. Вісник проблем біології і медицини. 2015;2(1):58-62. *(Особистий внесок здобувача: участь у аналізі та узагальненні літературних джерел, підготовці окремих розділів статті)*.
5. Ступчук МС, **Грушка НГ**, Шепель ОА, Блашків ТВ, Вознесенська ТЮ. Мейотичне дозрівання ооцитів і життєздатність клітин їх фолікулярного оточення, тимуса і лімфатичних вузлів в умовах експериментального імунного гломерулонефриту. Вісник проблем біології і медицини. 2015;4(2):229-231. *(Особистий внесок здобувача: виконання частини експериментальних досліджень; участь у проведенні аналізу, статистичній обробці та узагальненні отриманих результатів)*.
6. Литвиненко АП, Срібна ВО, **Грушка НГ**, Вознесенська ТЮ, Блашків ТВ. Мейотичне дозрівання ооцитів і життєздатність клітин їх фолікулярного оточення, тимуса і лімфатичних вузлів за умов моделювання системного імунокомплексного ушкодження. Одеський медичний журнал. 2016;(1):13-17 *(Особистий внесок здобувача: участь у формуванні ідеї дослідження; виконано частину експериментальних досліджень; проведено аналіз, статистичну обробку та узагальнення результатів)*.
7. Срібна О, **Грушка НГ**, Янчій РІ. Однотиткові розриви ДНК ядер клітин фолікулярного оточення ооцитів, тимуса і лімфатичних вузлів за умов експериментального імунокомплексного ушкодження та застосування антиоксиданта. Вісник проблем біології та медицини. 2016;2(3):195-199. *(Особистий внесок здобувача: участь у формуванні ідеї дослідження; виконано частину експериментальних досліджень; проведено аналіз, статистичну обробку та узагальнення результатів; участь у підготовці рукопису статті)*.
8. Литвиненко АП, Срібна ВО, **Грушка НГ**, Вознесенська ТЮ, Блашків ТВ. Вплив імунізації бичачим сироватковим альбуміном на ооцити, клітини їх фолікулярного

оточення, клітини тимуса і лімфатичних вузлів у мишей. Досягнення біології та медицини. 2015;(2):10–13. *(Особистий внесок здобувача: участь у формуванні ідеї дослідження; виконано частину експериментальних досліджень; проведено аналіз, статистичну обробку та узагальнення результатів).*

9. **Грушка НГ.** Вплив інгібітора полі(АДФ-рибозо)полімерази 4-гідроксиквіназоліну на загибель імунокомпетентних клітин за умов імунокомплексної патології у мишей. Фізіол журн. 2017;63(1):43-50. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz63.01.043>. *(Особистий внесок здобувача: робота виконана автором самостійно).*

10. **Срібна ВО, Грушка НГ, Шепель ОА, Блашків ТВ, Янчій РІ.** Розподіл одониткових розривів ДНК ядер ооцитів в умовах впливу антиоксиданта, блокатора ПАРП, субстрата NOS, блокатора iNOS. Вісник проблем біології і медицини. 2017;4(3):231-234. DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-231-234. *(Особистий внесок здобувача: виконано частину експериментальних досліджень; проведено аналіз, статистичну обробку та узагальнення отриманих результатів).*

11. **Вознесенська ТЮ, Ступчук МС, Грушка НГ, Кондрацька ОА, Блашків ТВ.** Вплив внутрішньовенного введення наночастинок срібла на ДНК ядер клітин тимуса, лімфатичних вузлів і фолікулярного оточення ооцита в умовах експериментального системного аутоімунного ушкодження. Вісник проблем біології і медицини. 2018;1(2):327-331. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-327-331. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень; участь в аналізі, статистичній обробці та узагальненні отриманих результатів).*

12. **Кондрацька ОА, Грушка НГ, Павлович СІ, Стовбун ЮР, Плинка ОІ, Янчій РІ.** Гліцирризинат амонію чинить протективний вплив на оогенез та послаблює генотоксичний стрес і загибель імунних клітин в умовах ендотоксемії, індукованої ліпополісахаридом. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2020;3/4(91):5–11. <https://doi.org/10.25040/ecpb2020.03-04.005>. *(Особистий внесок здобувача: участь у постановці завдань дослідження, плануванні та виконанні експериментальних досліджень; участь у проведенні аналізу, узагальненні результатів, підготовці рукопису статті).*

Статті у зарубіжних наукових виданнях, що відображають результати дисертаційного дослідження та не індексуються у міжнародних наукометричних базах даних

1. **Grushka N, Makogon N, Pavlovych S, Bryzgina T, Martynova T, Sukhina V, Yanchii R.** Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline exerts a protective effect against concanavalin A-induced hepatitis in mice. *J Health Sci.* 2013;3(11):463-468. *(Особистий внесок здобувача: сформовано ідею дослідження; участь у виконанні експериментальних досліджень; проведено аналіз, статистичну обробку; підготовлено рукопис статті).*

2. **Grushka N, Pavlovych S, Kondratska O, Pilkevich N, Yanchii R.** Effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition on morpho-functional state of immunocytes under conditions of experimental endotoxemia in mice. *World J Pharm Pharm Sci.* 2019;8(8):161-173. DOI: 10.20959/wjpps20198-14468. *(Особистий внесок здобувача: сформовано ідею*

дослідження; участь у виконанні експериментальних досліджень; проведено аналіз, підготовлено рукопис статті).

3. Shepel E, **Grushka N**, Makogon N, Voznesenskaya T, Yanchii R. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) protects against experimental immune complex-induced ovarian failure in mice. *Int J Health Sci Res.* 2016;6(11):103-108. *(Особистий внесок здобувача: участь у формуванні ідеї дослідження, виконанні експериментальних досліджень, проведенні аналізу та узагальненні отриманих результатів).*

4. Lytvynenko AP, Rieznichenko LS, Sribna VA, Stupchuk MI, **Grushka NG**, Shepel AA, Voznesenska TYu, Blashkiv TV, Kaleynykova ON. Functional status of reproductive system under treatment of silver nanoparticles in female mice. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2017;6(5):1713–1720. doi:10.18203/2320-1770.ijrcog20171930. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень та статистичній обробці отриманих результатів).*

5. Sribna VO, Kaleynykova ON, **Grushka NG**, Blashkiv TV, Voznesenska TYu, Yanchiy RI. Resumption of meiotic maturation of oocytes, pre- and postimplantation mortality of embryos under ten-time intravenous treatment of silver nanoparticles in mice // *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology.* 2018. Vol. 7, No. 11. P. 4360–4365. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20184478>. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень та статистичній обробці отриманих результатів).*

Патенти України на корисні моделі

1. Макогон НВ, Вознесенська ТЮ, Павлович СІ, **Грушка НГ** та ін. Спосіб моделювання імунокомплексного ушкодження у мишей. Патент України на корисну модель №93351; 2014. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні частини експериментальних досліджень, аналізі, статистичній обробці та узагальненні отриманих результатів).*

2. Ступчук МС, Вознесенська ТЮ, **Грушка НГ**, Шепель ОА, Джуран БВ, Блашків ТВ. Спосіб моделювання системного аутоімунного ушкодження у мишей. Патент України на корисну модель №120418; 2017. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні частини експериментальних досліджень, аналізі, статистичній обробці та узагальненні отриманих результатів).*

3. **Грушка НГ**, Кондрацька ОА, Павлович СІ, Джуран БВ, Янчій РІ. Спосіб моделювання системної ендотоксемії у мишей лінії Альбіно. Патент України на корисну модель №139296; 2019. *(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні та виконанні частини експериментальних досліджень, аналізі, статистичній обробці та узагальненні отриманих результатів, а також їх інтерпретації).*

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації
(в авторефераті вказано 18 з загальної кількості 30)**

1. Грушка Н.Г., Шепель О.А., Макогон Н.В., Вознесенська Т.Ю., Янчій Р.І. Вплив інгібітора полі(АДФ-рибозо)полімерази 4-гідроксиквіназоліну на шляхи загибелі імункомпетентних та гранулярних клітин за умов імункомплексної патології у мишей // Тези доповідей 5-го з'їзду Українського товариства клітинної біології з міжнародною участю (Одеса, 2–6 жовтня 2016 р.). – С. 8.
2. Янчій Р.І., Срібна В.О., Павлович С.І., Грушка Н.Г., Макогон Н.В. Механізми участі полі(АДФ-рибозо)полімерази (ПАРП) у патогенезі імуніопосередкованих захворювань // Тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (Харків, 5–7 жовтня 2016 р.). – С. 279.
3. Kondratskaya E.A., Grushka N.G., Voznesenskaya T.Yu., Yanchiy R.I. The effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline on oogenesis and cell death pathways under experimental immune complex-mediated injury in mice // Proceedings of the International Medical Congress “Euromedica – Hannover” (Hannover, Germany, 2017). – P. 128–129.
4. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Пількевич Н.О., Янчій Р.І. Вплив цитрату германію на генотоксичний стрес імуніцитів мишей, спричинений введенням ліпополісахариду // Матеріали III Національного конгресу з імунології, алергології та імунореабілітації (Дніпро, 17–19 квітня 2018 р.). – С. 15.
5. Kondratska O., Grushka N., Pavlovych S., Yanchii R. Effect of PARP inhibition on HAS2, COX-2 and GREM1 gene expression in ovarian cumulus cells under experimental immune complex injury in mice // Proceedings of the 3rd International Conference “Smart Bio” (Kaunas, Lithuania, May 2–4, 2019). – P. 273.
6. Yanchiy R., Makogon N., Bryzgina T., Sukhina V., Voznesenskaya T., Shepel O., Lukjanchuk A., Blashkiv T., Pavlovich S., Martynova T., Grushka N., Kolesnikova O. Pharmacological inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase modulates cell death pathways in the mouse model of immune ovarian failure // Proceedings of the XXII International Symposium “Molecular and physiological aspects of regulatory processes of the organism” (Kraków, Poland, 2013). – P. 96.
7. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Пількевич Н.О., Янчій Р.І. Вплив інгібування полі(АДФ-рибозо)полімерази на ушкодження ДНК та шляхи загибелі імуніцитів мишей за умов ендотоксемії, індукованої ліпополісахаридом // Матеріали XX з'їзду Українського фізіологічного товариства (Київ, 27–30 травня 2019 р.). – Фізіол. журн. – 2019. – Т. 65, № 3 (додаток). – С. 182.
8. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Пількевич Н.О., Янчій Р.І. Вплив гліцирризинату амонію на індукований ліпополісахаридом генотоксичний стрес клітин лімфатичних вузлів мишей // Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм. Галицькі читання II» (Тернопіль, 2020 р.). – С. 34.

9. Kondratska O.A., Grushka N.G. Changes in cumulus cell gene expression under the condition of experimental immune-mediated inflammation // *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 4, No. 1. – P. 11–12.
10. Kondratska O., Grushka N., Pavlovych S., Krasutska N., Yanchii R. Role of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in the pathogenesis of immune complex-induced ovarian injury in mice // *Proceedings of the XXVIII Congress of the Polish Physiological Society (Gdańsk, Poland, September 15–17, 2021)*.
11. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Янчій Р.І. Вплив інгібування полі(АДФ-рибозо)полімерази на цілісність ДНК ядер клітин тимуса і лімфатичних вузлів мишей за умов імунокомплексної патології // *Матеріали XLII Наукових читань імені О.О. Богомольця (Київ, 24 травня 2021 р.)*. – С. 33.
12. Meshko V.V., Kondratska O.A., Grushka N.G., Pavlovych S.I., Yanchii R.I. Lipopolysaccharide-induced genotoxic stress in cells of the immune and reproductive systems in mice // *Proceedings of the IV International Scientific Conference “Microbiology and Immunology – The Development Outlook in the 21st Century” (Kyiv, Ukraine, September 22–23, 2022)*. – P. 46.
13. Kondratska O.A., Grushka N.G., Pavlovych S.I., Sribna V.O., Yanchii R.I. PARP inhibition protects against ovarian injury in mice with an experimental model of immune complex disease // *Proceedings of the All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with International Participation (June 15–17, 2022)*. – P. 106.
14. Pavlovych S.I., Grushka N.G., Kondratska O.A., Meshko V.V., Yanchii R.I. Analysis of morphological changes in the internal organs of mice during LPS-induced endotoxemia // *Modern aspects of microbiology, virology, and biotechnology in wartime and post-war period: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (Kyiv, 2023)*. – P. 187.
15. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Янчій Р.І. Вплив інгібіторів полі(АДФ-рибозо)полімерази на ступінь ушкодження ДНК та загибель імунокомпетентних клітин при експериментальному імунному гепатиті // *Матеріали XIV науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 23–25 жовтня 2024 р.)*. – С. 22–23.
16. Грушка Н.Г., Павлович С.І., Кондрацька О.А., Андрійчук І.І., Янчій Р.І. Вплив блокаторів ПАРП-1 на інтенсивність функціонально-метаболічної активності клітин-ефекторів запалення за умов дії конканаваліну А // *Матеріали міжнародної конференції з нейронаук та наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології*. – *Фізіол. журн.* – 2024. – Т. 70, № 5 (додаток). – С. 25–26.
17. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Янчій Р.І. Кореляційний аналіз ушкодження ДНК та загибелі імунокомпетентних клітин в умовах експериментального запалення різного генезу // *Матеріали IX міжнародної конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (Київ, 21–24 жовтня 2025 р.)*. – С. 58.
18. Грушка Н.Г., Кондрацька О.А., Павлович С.І., Андрійчук І.І., Янчій Р.І. Вплив кверцетину на інтегральну цілісність ДНК клітин тимуса та лімфатичних вузлів за умов системної ендотоксемії // *Матеріали науково-практичної конференції «XXIV Читання імені В.В. Підвисоцького», присвяченої 125-річчю Одеського національного медичного університету (Одеса, 15–16 травня 2025 р.)*. – С. 73–76.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

3-АБА – 3-амінобензамід
 4-ГК – 4-гідроксиквіназолін
 АНД – андрографолід
 АТФ – аденозинтрифосфат
 АФК – активні форми кисню
 БСА – бичачий сироватковий альбумін
 ГА – гліциризинат амонію
 ДК – дендритні клітини
 ДР – дволанцюгові розриви
 ЗП – зародковий пухирець
 ІДК – індекс ДНК комет
 ІКК – імунокомпетентні клітини
 ІК – імунні комплекси
 ІЛ – інтерлейкін
 ІОЗ – імуноопосередковані захворювання
 ІФН – інтерферон
 ІФН- γ – інтерферон гама
 КК – кумулюсні клітини
 КОК – кумулюсно-ооцитарний комплекс
 КонА – конканавалін А
 ЛПС – ліпополісахарид
 МДА – малоновий діальдегід
 МПО – мієлопероксидаза
 НК – натуральні кілери
 НКТ – природні кілерні Т-лімфоцити
 ОР – одноланцюгові розриви
 ПАРП-1 – полі(АДФ-рибозо)полімераза-1
 ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
 РГАЛ – реакція гальмування адгезії лімфоцитів
 СЦК – середній цитохімічний коефіцієнт
 СОД – супероксиддисмутаза
 ЦГ – цитрат германію
 ФНП- α – фактор некрозу пухлин альфа
 цГМФ – циклічний гуанозинмонофосфат
 AP-1 – активаторний протеїн-1 (Activator Protein-1)
 DAMP - молекулярні патерни, асоційовані з ушкодженням (damage-associated molecular patterns)
 iNOS – індуцибельна NO-синтаза
 NF- κ B – ядерний фактор κ B (nuclear factor kappa B)
 PI3K – фосфатидилінозитол-3-кіназа
 Th1 – Т-клітини – хелпери першого типу
 TLR – Toll-подібні рецептори
 RAGE – рецептор кінцевих продуктів глікування