

УДК 616.72-002-092.9:615.276

DOI <https://doi.org/10.32782/2786-9067-2026-31-2>

КОМБІНОВАНЕ ЗАСТОСУВАННЯ ЦЕЛЕКОКСИБУ ТА БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЗАПАЛЕННЯ ПРИ АД'ЮВАНТНОМУ АРТРИТІ

Дробнер І.Г.^{1,2}, Гладких Ф.В.^{1,3}, Лядова Т.І.¹, Матвєєнко М.С.¹, Студент В.О.^{1,4,5}

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

²Комунальне некомерційне підприємство «Хмельницький протипухлинний центр»
Хмельницької обласної ради, Хмельницький, Україна

³Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

⁴Комунальний заклад Львівської обласної ради

«Львівський медичний фаховий коледж післядипломної освіти», Львів, Україна

⁵Товариства з обмеженою відповідальністю «Медичний центр 3D Діагностика», Львів, Україна

Анотація. Ревматоїдний артрит є поширеним системним автоімунним захворюванням, що супроводжується хронічним синовітом, прогресуючим руйнуванням суглобів і зростанням інвалідизації. Симптоматичне лікування нестероїдними протизапальними засобами ефективно зменшує біль і набряк, однак потребує пошуку підходів, здатних підсилити протизапальну дію та потенційно знизити потребу у тривалому застосуванні. У доклінічних моделях артриту доцільно оцінювати комбіновані схеми, які поєднують фармакологічне пригнічення запалення з біологічною імуномодуляцією. Перспективним вважають використання безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів з імуномодулюючим і репаративним потенціалом.

Мета роботи – оцінити вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на протизапальну ефективність целекоксибу на моделі ад'ювантного артриту у щурів-самців за динамікою набряку кінцівки.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження на 42 щурах, рандомізованих у 6 груп по 7 тварин. Ад'ювантний артрит відтворювали субплантарним введенням ад'юванта Фрейнда (0 доба). З 14 по 28 доби целекоксиб вводили внутрішньошлунково 10,0 мг/кг. Через кожні 2 доби внутрішньом'язово вводили кріоекстракти серця (2,5 мл/кг) або селезінки (5,0 мл/кг), чи кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (0,6 мл/кг). Набряк оцінювали онкометром до початку експерименту, на 14, 28 добу.

Результати та їх обговорення. У контрольних тварин на 14 добу набряк ураженої кінцівки зростав до 8,2 ум. од. проти 4,1 ум. од. до початку експерименту і залишався високим на 28 добу (7,9 ум. од.), що відображало хронізацію запалення. Целекоксиб знижував набряк на 28 добу до 5,5 ум. од., тобто на 33,6% порівняно з контролем ($p < 0,001$), зі зменшенням відносно 14 доби ($p < 0,01$). Комбінації з безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами забезпечували подальше зниження показника до 5,2 (кріоекстракт серця), 5,1 (кріоекстракт селезінки) та 5,0 ум. од. (кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин). Міжгрупові відмінності з монотерапією целекоксибом не були статистично значущими ($p = 0,08-0,16$), але тенденція була найвиразнішою для кондиціонованого середовища. Це узгоджується з потенційною мультитаргетною імуномодуляцією запального осередку в моделі.

Висновки. У щурів з ад'ювантним артритом формувалася стійка набряково-запальна реакція до 28 доби. Целекоксиб зменшував набряк порівняно з нелікованими тваринами. Додавання безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів не послаблювало ефект і забезпечувало тенденцію до зниження, найбільш помітну для кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин.

Ключові слова: запалення, нестероїдні протизапальні засоби, мезенхімальні стовбурові клітини, артрит, целекоксиб, кріоекстракти.

Вступ. Ревматоїдний артрит (РА) належить до найпоширеніших системних автоімунних захворювань людини й характеризується хронічним запаленням, прогресуючим ураженням суглобів та значним внеском у тягар інвалідності. За даними сучасних епідеміологічних уза-

гальнень, глобальна поширеність РА залишається стабільно високою, а оцінки «світового тягаря» вказують на тенденцію до подальшого зростання кількості випадків і втрат працездатності у наступні десятиліття, що зумовлює потребу в оптимізації терапевтичних стратегій та доклінічних дослідженнях нових підходів [11; 25].

Патогенез РА визначається складною взаємодією вродженого та адаптивного імунітету, персистуючою активацією клітин запалення й формуванням мікрооточення, яке підтримує синовіт, гіперплазію синовіальної оболонки та руйнування хряща і кістки. Сучасна концепція підкреслює роль «мережі цитокінів», де TNF- α та IL-6 є центральними драйверами, але клінічно значущими є також IL-1 β , IL-17 та інші медіатори, що координують клітинну інфільтрацію, ангіогенез і деструктивне ремоделювання тканин [16]. Водночас дедалі переконливіші дані демонструють, що саме вроджений імунітет (моноцити/макрофаги, нейтрофіли, дендритні клітини та їхні сигнальні каскади) здатний запускати й підтримувати патологічне запалення, формуючи стійку запальну «пам'ять» та резистентність процесу до пригнічення [14]. На молекулярному рівні значущу роль відіграє NF- κ B-залежна регуляція транскрипції прозапальних генів, включно з молекулами, що сприяють остеокластогенезу (через RANKL-залежні механізми), інфільтрації та підтримці панусу [6; 15].

Клінічні прояви РА виходять далеко за межі ураження опорно-рухового апарату. РА є незалежним фактором ризику серцево-судинної патології, а системне запалення та дисфункція ендотелію сприяють прискореному атерогенезу, підвищенню артеріальної жорсткості, розвитку серцевої недостатності та збільшенню частоти серцево-судинних подій [23]. Сучасні огляди в межах кардіо-ревматології наголошують, що ризик серцево-судинних ускладнень у пацієнтів із РА може бути приблизно удвічі вищим порівняно з особами без РА, а оптимальний контроль активності захворювання разом із керуванням традиційними факторами ризику розглядається як ключова стратегія профілактики [26]. Цей контекст принципово важливий, коли йдеться про вибір протизапальної фармакотерапії та її потенційні системні ефекти.

У симптоматичному контролі болю та запалення при артритах важливе місце посідають нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ). Серед них селективні інгібітори циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) (коксиби) розглядаються як ефективний інструмент впливу на простагландин-залежну ланку запальної реакції та периферичні механізми болю. Однак ключовим обмеженням тривалого застосування НПЗЗ, включно з коксибами, залишається баланс між ефективністю та безпекою, зокрема серцево-судинною. Систематичний аналіз саме щодо целекоксибу (ЦКС) в популяціях із остеоартритом та ревматоїдним артритом демонструє, що в середньому профіль серцево-судинної безпеки ЦКС є прийнятним, але потребує обережності у пацієнтів із високим серцево-судинним ризиком або супутнім прийомом антитромбоцитарних засобів [13]. Для експериментальної медицини це означає актуальність пошуку підходів, здатних **зберегти протизапальний та анальгетичний ефекти інгібування ЦОГ-2, одночасно пом'якшуючи потенційні небажані системні наслідки.**

Одним із найбільш перспективних напрямів сучасної біомедицини є використання біологічних агентів із імуномодуючим та репаративним потенціалом. Особливу увагу привертають мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) та, зокрема, їхні позаклітинні везикули/екзосоми й секретом, що формують концепцію «cell-free therapy». Узагальнення доклінічних даних свідчать, що МСК-похідні позаклітинні везикули здатні модулювати імунну відповідь у моделях запальних і дегенеративних захворювань опорно-рухового апарату, включно з РА, завдяки перенесенню біоактивних молекул (мікроРНК, білків, ліпідних медіаторів) та зміні фенотипу клітин-мішеней [1]. Окремі оглядові роботи, сфокусовані саме на РА, підкреслюють імунорегуляторні механізми МСК та екзосом з МСК (зменшення прозапальних цитокінів, вплив на Т-клітинні субпопуляції та макрофагальний поляризаційний баланс) і розглядають ці підходи як технологічно перспективні для створення стандартизованих біологічних препаратів [3; 4; 18].

Важливо, що існують експериментальні докази ефективності МСК-екзосом у моделях запального артрити, де терапевтичний ефект пов'язують із таргетною доставкою мікроРНК і пригніченням патологічної активності фібробластоподібних синовіоцитів та зменшенням вираженості артрити й кісткової деструкції. Зокрема, показано, що екзосоми МСК, збагачені miR-320a, можуть пригнічувати прогресування артрити та ушкодження кістки в експериментальній моделі колаген-індукованого артрити, що підтверджує принципову можливість керованої «молекулярної» імунотерапії екзосомами [20]. Додатково продемонстровано, що екзосоми МСК із модифікованим мікроРНК-профілем здатні змінювати імунні відповіді (включно з Treg-асоційованими механізмами) у моделі колаген-індукованого артрити, що підкреслює перспективність безклітинних біологічних стратегій саме для аутоімунного запалення [27]. На рівні клітин-мішеней РА-патогенезу (фібробластоподібні синовіоцити) показано, що МСК-екзосоми з надекспресією miR-124a здатні пригнічувати проліферацію та міграцію РА-асоційованих синовіоцитів і сприяти їх апоптозу *in vitro*, що узгоджується з ідеєю пригнічення «агресивного» синовіального фенотипу як ключової терапевтичної цілі [19].

Паралельно з безклітинними підходами на основі МСК, у доклінічних дослідженнях зростає інтерес до комплексних біологічних препаратів тканинного походження, які містять набір біоактивних компонентів і теоретично можуть впливати на запалення, репарацію та системні ускладнення. Для таких засобів принципово важливими є стандартизація складу, відтворюваність та контроль якості – саме ці чинники визначають можливість коректної інтерпретації ефектів у моделі й подальшої трансляції результатів.

Мета дослідження: оцінити вплив кріоекстракту серця, кріоекстракту селезінки та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на протизапальну ефективність целекоксибу на моделі ад'ювантного артрити у щурів.

Матеріали та методи. У роботі було використано три варіанти БКБЗ – кріоекстракт серця (КЕСц), кріоекстракт селезінки (КЕС) та кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК). Кожен із них має специфічний набір біоактивних компонентів та власні технологічні особливості приготування. У цьому підрозділі детально наведено методологію їх отримання та стандартизації, що забезпечує відтворюваність, безпечність і контроль якості препаратів для подальшого експериментального використання.

Експериментальні дослідження проведені відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV (2006 р.), наказів МОН України № 249 (2012 р.) та МОЗ України № 944 (2009 р.), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001 р.), Директиви 2010/63/EU, Європейської конвенції (Страсбург, 1986 р.) та рекомендацій ARRIVE 2.0 (2020 р.). Усі маніпуляції виконано з дотриманням біоетичних норм та принципів 3R (Replacement, Reduction, Refinement). Дослідження погоджено Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (витяг з протоколу № 2/2 від 10 грудня 2025 р.).

Ад'ювантний артрит (АА) у щурів відтворювали шляхом введення повного ад'юванта Фрейнда (далі – ПАФ; *Thermo Fisher Scientific, США*) у субплантарну ділянку задньої лівої кінцівки [2; 22]. День введення ПАФ визначали як «0» день.

Лікування щурів з АА здійснювали з 14 по 28 добу. Досліджувані БКБЗ вводили в/м через кожні 2 доби – на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту (усього 5 ін'єкцій). ЦКС («Целебрекс®», *P-Фарм Джермані ГмбХ, Німеччина*) вводили щоденно з 14 по 28 дні експерименту у дозі 10 мг/кг маси тіла 1 р/д (рис. 1) [12] у вигляді водно-полісорбатної суспензії на Tween-80 [28].

Дослідження проведено на 42 щурах-самцях (200–220 г), рандомізованих на 6 груп (табл. 1) по 7 тварин.

На «0», 14 та 28-му добу проводили оцінку протизапальної активності ЦКС та БКБЗ за набряком ушкодженої кінцівки, яку визначали за допомогою онкометра [7].

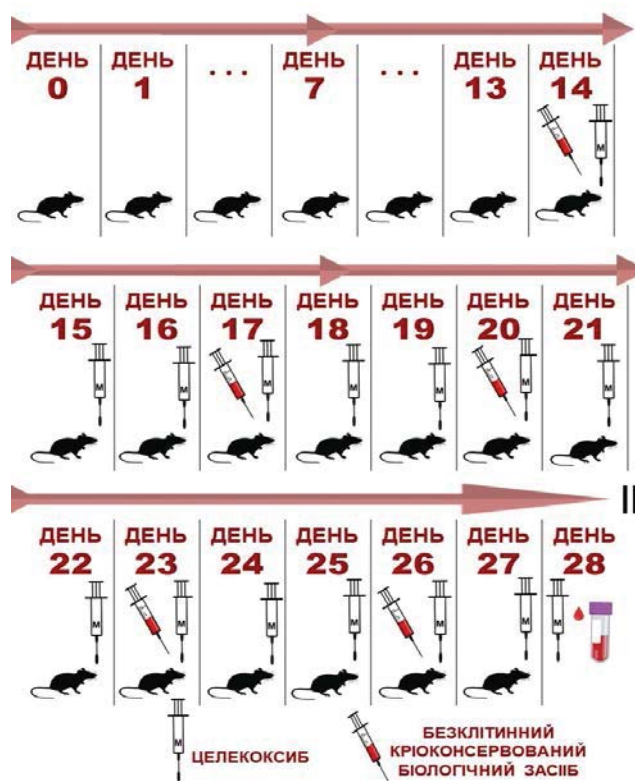


Рис. 1. Дизайн експериментальних досліджень впливу БКБЗ на протизапальну активність ЦКС на моделі АА у щурів

Таблиця 1

Розподіл експериментальних тварин за групами та умовами моделювання і лікування АА (N=42)

Група	n	Умови експерименту
I	7	інтактні щури, яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура [8];
II	7	щури зі змодельованим АА без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl у дозі 1,0 мл/кг [8];
III	7	щури зі змодельованим АА, яким з 14 по 28 дні експерименту щоденно в/шл вводили ЦКС у дозі 10,0 мг/кг [12];
IV	7	щури зі змодельованим АА, яким з 14 по 28 дні експерименту щоденно в/шл вводили ЦКС у дозі 10,0 мг/кг [12] та на 14, 17, 20, 23 та 26 дні за 60 хв до введення ЦКС в/м вводили КЕСЦ у дозі 2,5 мг/кг [9];
V	7	щури зі змодельованим АА, яким з 14 по 28 дні експерименту щоденно в/шл вводили ЦКС у дозі 10,0 мг/кг [12] та на 14, 17, 20, 23 та 26 дні за 60 хв до введення ЦКС в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мг/кг [1];
VI	7	щури зі змодельованим АА, яким з 14 по 28 дні експерименту щоденно в/шл вводили ЦКС у дозі 10,0 мг/кг [12] та на 14, 17, 20, 23 та 26 дні за 60 хв до введення ЦКС в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мг/кг [5].

Розвиток запальної реакції оцінювали за динамікою товщини лапки (в ум. од.), яку вимірювали за допомогою механічного онкометра за Захаревським О.С. (рис. 2) на «0», 14 та 28-му дні експерименту [7].

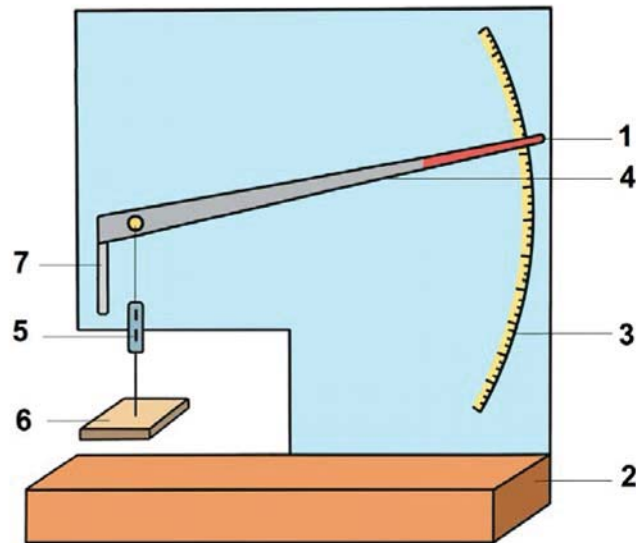


Рис. 2. Прилад для вимірювання діаметру кінцівки щурів [7]

Примітки.

- 1 – приладовий щит;
- 2 – основа;
- 3 – вимірювальна шкала;
- 4 – стрілка з відношенням плечей 1/10;
- 5 – трубка, яка попереджає зміщення контактної площадки;
- 6 – контактна площадка;
- 7 – противага.

Протизапальну активність (ПЗА, %) в динаміці ПАФ-індукованого набряку кінцівки у щурів з АА розраховували за формулою [7]:

$$\text{ПЗА} = \Delta D_{n \text{ дослідної групи}} - \Delta D_{n \text{ контрольної групи}}$$

де: ПЗА – протизапальна активність, %;

ΔD_n – приріст діаметру ушкодженої кінцівки щурів в день n відносно вихідних показників, %.

Опрацювання експериментальних даних здійснювали за допомогою «Microsoft Office Excel». Програмний пакет використовували для виконання первинних статистичних розрахунків, визначення варіаційних характеристик та побудови графічних моделей результатів. Тип розподілу показників перевіряли за допомогою критерію Шапіро-Вілка (Shapiro-Wilk, $n < 50$), який вважається оптимальним для невеликих вибірок і дозволяє оцінити відповідність даних нормальному розподілу. Для контролю рівності дисперсій додатково застосовували тест Левена (Levene's test), що дає можливість обґрунтовано використовувати параметричні статистичні процедури.

У випадках, коли характеристики розподілу не відхилялися від нормальних, різницю між незалежними групами оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Дані з нормальним розподілом представляли у форматі $M \pm m$ (середнє \pm стандартна похибка середнього; $M \pm SE$) з розрахованими 95% довірчими інтервалами [21; 24; 31].

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідження показало, що розвиток АА супроводжувався вираженим збільшенням набряку ураженої кінцівки у щурів, що чітко відображає прогресування запального процесу (табл. 2). У тварин контрольної групи на 14 день дослідження величина набряку зросла майже вдвічі відносно вихідних значень, досягаючи 8,2 ум. од. проти 4,2 ум. од. у інтактних щурів ($p < 0,01$, приріст на 100,0%). Така динаміка підтверджує

високу відтворюваність моделі АА і наявність тяжкої запальної реакції. На 28 день у контрольних щурів без лікування спостерігалось лише незначне зменшення показника (7,9 ум. од.), що залишалося на 93,7% вищим за початковий рівень ($p < 0,01$), вказуючи на хронізацію запалення.

Введення ЦКС суттєво модифікувало перебіг запальної відповіді. Уже на 28 день величина набряку становила 5,5 ум. од., що відповідало зниженню показника на 33,6% порівняно з контролем ($p < 0,001$). У динаміці було відзначено достовірне зменшення відносно 14 дня ($p < 0,01$, зниження на 33,7%), що свідчить про виражену протизапальну активність препарату та його здатність контролювати прогресування артриту.

Таблиця 2

Вплив КЕСц, КЕС, КС-МСК та целекоксибу (ЦКС) на величину набряку кінцівки у щурів з АА в динаміці, ум. од. (М ± m (95% ДІ), n=42)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група	Рівень статистичної вірогідності [%]							
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ЦКС	АА + ЦКС + КЕСц	АА + ЦКС + КЕС	АА + ЦКС + КС-МСК	p2-1	p3-2	p4-2	p5-2	p6-2	p4-3	p5-3	p6-3
«0» день	4,1±0,06 (95% ДІ: 4,0–4,2)	4,1±0,09 (95% ДІ: 3,9–4,2)	4,1±0,07 (95% ДІ: 3,9–4,2)	4,1±0,08 (95% ДІ: 3,9–4,2)	4,0±0,04 (95% ДІ: 4,0–4,1)	4,0±0,05 (95% ДІ: 3,9–4,1)	0,5 [1,7%]	0,8 [0,7%]	0,8 [0,7%]	0,8 [0,4%]	0,3 [2,5%]	1,0 [-]	0,6 [0,6%]	0,2 [3,1%]
14 день	4,2±0,05 (95% ДІ: 4,1–4,3) рд0 = 0,35 [-]д0	8,2±0,11 (95% ДІ: 8,0–8,5) рд0 = 0,009 [100,0%]д0	8,2±0,07 (95% ДІ: 8,1–8,4) рд0 = 0,009 [100,0%]д0	8,0±0,10 (95% ДІ: 7,8–8,2) рд0 = 0,009 [95,1%]д0	8,1±0,13 (95% ДІ: 7,8–8,4) рд0 = 0,009 [102,5%]д0	8,1±0,13 (95% ДІ: 7,9–8,4) рд0 = 0,009 [102,5%]д0	< 0,001 [98,3%]	0,9 [0,2%]	0,2 [2,4%]	0,4 [1,7%]	0,6 [1,2%]	0,2 [2,3%]	0,4 [1,6%]	0,6 [1,0%]
28 день	4,2±0,05 (95% ДІ: 4,1–4,3) рд0 = 0,38 [1,0%]д0 рд14 = 0,45 [0,3%]д14	7,9±0,13 (95% ДІ: 7,6–8,1) рд0 < 0,01 [93,7%]д0 рд14 = 0,06 [4,7%]д14	5,5±0,13 (95% ДІ: 5,2–5,7) рд0 < 0,01 [33,6%]д0 рд14 < 0,01 [33,7%]д14	5,2±0,11 (95% ДІ: 5,0–5,4) рд0 < 0,01 [24,4%]д0 рд14 < 0,01 [35,3%]д14	5,1±0,13 (95% ДІ: 4,9–5,4) рд0 < 0,01 [25,0%]д0 рд14 < 0,01 [36,5%]д14	5,0±0,19 (95% ДІ: 4,9–5,4) рд0 < 0,01 [25,0%]д0 рд14 < 0,01 [38,4%]д14	< 0,001 [88,4%]	< 0,001 [30,5%]	< 0,001 [33,8%]	< 0,001 [34,5%]	< 0,001 [36,2%]	0,16 [4,7%]	0,12 [5,8%]	0,08 [8,1%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами _{1,2,3,4,5,6} вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами _{д0, д14} вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Поєднання ЦКС з БКБЗ посилювало цей ефект. У групі, де щурам вводили ЦКС разом з КЕСц, величина набряку на 28 день становила 5,2 ум. од., що було на 35,3% нижче від значень 14 дня ($p < 0,01$) і на 24,4% менше від контрольних показників ($p < 0,001$). Аналогічний результат отримано й при застосуванні КЕС: рівень набряку досягав 5,1 ум. од., що відповідало зменшенню на 25,0% порівняно з контролем ($p < 0,001$) і на 36,5% відносно 14 дня ($p < 0,01$). Найбільш виражений ефект спостерігався у групі ЦКС + КС-МСК: величина набряку становила лише 5,0 ум. од., що було на 34,5% нижче від контрольних значень ($p < 0,001$) і на 38,4% менше порівняно з 14 днем ($p < 0,01$). Водночас відмінності між групами ЦКС та ЦКС + БКБЗ щодо вираженості протизапальної дії не досягали статистичної значущості ($p = 0,08–0,16$), що свідчить про співставний рівень ефективності, хоча тенденція до посилення ефекту при застосуванні КС-МСК є очевидною.

Результати, отримані на моделі АА, узгоджуються з уявленням про АА як про відтворювану експериментальну систему з вираженою гостро-хронічною запальною відповіддю, в якій

рання фаза набряку та гіперемії поступово переходить у персистуюче імунозапалення з залученням як вроджених, так і адаптивних механізмів. Виявлене майже дворазове збільшення об'єму ураженої кінцівки на 14 добу та збереження високих значень на 28 добу в контрольній групі підтверджують формування стійкого запального фенотипу й хронізацію процесу, що типово для АА і наближує модель до ключових патогенетичних рис РА: домінування цитокин-керованого каскаду, підтримання синовіту, ангіогенезу та вторинних деструктивних змін у навколосуглобових тканинах.

Виражене зменшення набряку при лікуванні ЦКС логічно відображає значущість простагландин-залежної ланки запалення у цій моделі. Селективне пригнічення ЦОГ-2 обмежує синтез PGE₂, що знижує вазодилатацію й проникність мікроциркуляторного русла, послаблює локальну ексудацію та периферичну сенситизацію ноцицепторів. Однак те, що на 28 добу показники набряку в групі ЦКС залишалися вищими за інтактні, підкреслює: для персистуючого автоімунного/імунозалежного запалення однієї лише блокади простагландинів недостатньо. Це узгоджується з сучасною концепцією «запального мікрооточення» при РА/АА, де стабільність запального фенотипу підтримують не тільки простагландини, а й NF-κB-залежні транскрипційні програми, осі TNF-α/IL-6/IL-1β, Th17-асоційовані медіатори та клітинні взаємодії в тканинах. Саме багатоланковість регуляції створює «залишкове запалення», навіть за умов ефективної симптоматичної терапії НПЗЗ.

На цьому тлі показовою є тенденція до посилення протизапального ефекту при поєднанні ЦКС із БКБЗ – КЕС, КЕСц та КС-МСК. Хоча міжгрупові відмінності між монотерапією ЦКС та комбінаціями статистично не досягли значущості, узгоджений напрямок змін (менші значення набряку та більший відсоток зниження щодо 14 доби) є біологічно релевантним сигналом. Для АА характерні міжіндивідуальні відмінності інтенсивності відповіді на ПАФ, тому «невелике, але стабільне» зміщення показника в бік кращого контролю запалення при комбінаціях може відображати реальний ад'ювантний ефект, який стане статистично очевидним при збільшенні вибірки або при додаванні більш чутливих кінцевих точок (цитокіновий профіль, гістологія синовію, маркери остеокластогенезу, поведінкові тести болю).

Патогенетично найбільш переконливе пояснення потенціювання дії ЦКС полягає у «розведенні мішеней»: ЦКС пригнічує простагландин-залежну складову (переважно судинно-ексудативний компонент та простагландин-керовану сенситизацію), тоді як БКБЗ здатні впливати на імуноклітинні та цитокін-залежні контури, що формують персистенцію запалення. Для МСК-секретому/позаклітинних везикул накопичено переконливі доклінічні дані щодо імуномодулюючого ефекту: екзосоми транспортують мікроРНК, білки та ліпідні медіатори, які можуть гальмувати NF-κB-сигналінг, зменшувати продукцію TNF-α/IL-1β/IL-6 та змінювати функціональний стан клітин-ефекторів у запаленій тканині. Оглядові узагальнення підкреслюють, що КС-МСК розглядаються як «cell-free» альтернатива клітинній терапії саме завдяки здатності одночасно модулювати декілька ключових ланок запалення при прийнятнішому профілі безпеки та перспективі стандартизації препарату [17].

Окрема сильна ланка механістичного обґрунтування – вплив на макрофагальний баланс. У РА-подібних станах тканинні макрофаги та моноцитарні популяції підтримують цитокіновий «фон», сприяють рекрутингу клітин, продукують металопротеїнази та ко-стимулюють адаптивну відповідь. КС-МСК на різних моделях демонструють здатність зменшувати М1-поляризацію та сприяти зсуву до М2-фенотипу, що асоціюється з резолюцією запалення, репарацією та зменшенням тканинного ушкодження. У контексті проведеного дослідження це може означати: ЦКС швидше «гасить» простагландин-опосередковану судинну фазу, тоді як БКБЗ поступово «переналаштовують» клітинний склад/функцію у вогнищі запалення, що й проявляється більш вираженим спадом набряку від 14 до 28 доби при комбінаціях, особливо з КС-МСК [29].

Перевага (за тенденцією) КС-МСК над кріоекстрактами може бути пов'язана з тим, що секретом з МСК є більш «цілеспрямованим» імунорегулятором: він містить набір факторів,

які еволюційно пристосовані до керування запаленням і репарацією (пригнічення надмірної активації, підтримка ангиогенезу «правильного типу», обмеження фіброзу). Для РА особливо важливо, що екзосоми можуть впливати не лише на імунні клітини, а й на фібробластоподібні синовіоцити (FLS) – «агресивний» тканинний ефектор, який підтримує панус, інвазію та локальну деструкцію. Оглядові роботи, присвячені екзосомам різного походження при РА, підкреслюють їх здатність змінювати поведінку як імунних, так і суглобових клітин, впливаючи на проліферацію/міграцію FLS, ангиогенез та цитокінову продукцію. Це дає підстави очікувати, що навіть при близьких кінцевих значеннях набряку, «якість» запального процесу в тканинах (інфільтрація, неоваскуляризація, деградація матриксу) може відрізнятися на користь МСК-компонента, і такі відмінності краще проявляться при гістологічному/молекулярному аналізі [30].

Кріоекстракти серця та селезінки, ймовірно, реалізують ефект через інший механістичний «портрет» – широкий пул тканинних пептидів, фрагментів матриксу, регуляторних молекул та метаболітів, потенційно здатних впливати на системну імунну реактивність і оксидативний стрес. Для селезінки як імунного органа логічним виглядає внесок у модифікацію клітинної відповіді (лімфоцитарні субпопуляції, антиген-презентація, цитокіновий баланс), тоді як кардіальний екстракт теоретично може мати більший потенціал у площині «кардіо-/ангіопротекції» та антиоксидантного супроводу запалення. У сукупності з ЦКС це може формувати не стільки «сильніший протинабряковий удар», скільки м'якше системне запальне тло й потенційно кращу переносимість тривалішого протизапального впливу.

Важливо, що отримані дані дозволяють сформулювати концептуально значущий висновок: БКБЗ не «гальмують» протизапальну дію селективного інгібітора ЦОГ-2, а щонайменше не знижують її та демонструють тенденцію до потенціювання. Це принципово для подальшого розвитку ідеї комбінованої терапії, де фармакологічне пригнічення одного домінантного шляху (ЦОГ-2/PGE₂) підтримується біологічною імуномодуляцією, що може зменшити потребу в ескалації дози НПЗЗ або тривалості їх застосування. Саме ця логіка має особливу вагу в контексті серцево-судинної безпеки протизапальної терапії, адже при РА запалення саме по собі є проатерогенним чинником, а будь-які медикаментозні втручання повинні оцінюватися в системній перспективі «запалення – ендотелій – тромбоз/ішемія». МСК-опосередкована імуномодуляція може впливати на ендотеліальну дисфункцію, локальне/системне запалення та репаративні процеси в серцево-судинній системі; отже, додавання МСК-секретому до протизапальної схеми має теоретичні підстави розглядатися як шлях до «більш безпечного контролю запалення», хоча це потребує прямої перевірки в окремих блоках дослідження (маркерний профіль ендотелію, оксидативний стрес, гемостаз).

Отже, отримані результати підтримують модель мультитаргетної протизапальної стратегії: ЦКС забезпечує ефективний контроль простагландин-опосередкованого компонента запалення, а БКБЗ здатні додатково модифікувати імуноклітинні та тканинні механізми персистенції, формуючи тенденцію до більш глибокої резольуції набряку. Найперспективнішим у межах досліджених БКБЗ виглядає КС-МСК, що узгоджується з сучасними уявленнями про МСК-секретом як про носії багатокomпонентної імунорегуляції та репаративного потенціалу.

Висновки:

1. У щурів із експериментальним ад'ювантним артритом формувалася виражена та стійка запально-набрякова реакція: на 14 добу величина набряку ураженої кінцівки зростала до 8,2 ум. од. проти 4,1 ум. од. на початку експерименту, а на 28 добу залишалася високою – 7,9 ум. од., що на 93,7% перевищувало вихідний рівень, свідчаючи про розвиток і хронізацію артриту внаслідок відтворення експериментальної моделі.

2. Застосування целекоксибу у щурів з ад'ювантним артритом супроводжувалося вираженим лікувальним ефектом: на 28 добу величина набряку зменшувалася до 5,5 ум. од., що було

на 33,6% менше порівняно з нелікованими тваринами ($p < 0,001$) та на 33,7% нижче від показника на 14 добу ($p < 0,01$), що підтверджує істотну протизапальну активність препарату.

3. Комбіноване застосування целекоксибу з безклітинними кріоконсервованими біологічними засобами не лише не послаблювало його ефект, а й супроводжувалося тенденцією до підсилення позитивної дії: при поєднанні з кріоекстрактом серця величина набряку на 28 добу становила 5,2 ум. од. (-24,4% щодо контролю; -35,3% щодо 14 доби), з кріоекстрактом селезінки – 5,1 ум. од. (-25,0% і 36,5% відповідно), а з кондиціонованим середовищем мезенхімальних стовбурових клітин – 5,0 ум. од. (-34,5% щодо контролю та -38,4% щодо 14 доби), що вказує на найбільш виражену позитивну тенденцію саме для останньої комбінації, хоча міжгрупові відмінності порівняно з монотерапією целекоксибом не досягали статистичної значущості ($p = 0,08–0,16$).

Прикінцеві твердження

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що інтерпретація результатів обмежена видовими/модельними чинниками, умовами утримання та ресурсними рамками. Досліди *in vivo/in vitro* на щурах-самцях у стандартизованих умовах із однією дозою, переважно сурогатними показниками та коротким періодом спостереження не дають підстав для остаточних висновків щодо тривалої безпеки та клінічної релевантності. Розмір груп по 7 особин і часткова рандомізація/засліплення знижують точність і підвищують ризик систематичних похибок; міжлабораторної реплікації не виконано, тож зовнішня валідність і переносимість на людину обмежені. Для зменшення впливів дотримано Настанов щодо повідомлення про дослідження на тваринах (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* – ARRIVE) і Належної лабораторної практики (*Good Laboratory Practice* – GLP), стандартизовано протоколи, детально описано статистичні процедури. Результати є попередніми; підтвердження потребує багатоцентрових повторень, аналізу доза–ефект, включення обох статей і різних вікових груп, використання органодів/людських тканин та оцінювання клінічно значущих кінцевих точок.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження доцільно спрямувати на поглиблене вивчення механізмів взаємодії протизапальної фармакотерапії з безклітинними біологічними засобами, уточнення їх впливу на імунозапальні та репаративні процеси, а також на структурно-функціональний стан суглобових тканин. Перспективним є дослідження системних ефектів і безпеки комбінованого підходу, оцінка залежності результатів від дози та тривалості застосування, а також підтвердження отриманих даних у ширших експериментальних моделях і трансляційних дослідженнях.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Беспалова І. Г. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.19 – кріобіологія. Харків, 2016. 162 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/>.
2. Гладких Ф. В. Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024. Т. 32, № 3. С. 414–439. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>.
3. Гладких Ф. В. Безклітинні біологічні засоби: фокус на кондиціоновані середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Одеський медичний журнал*. 2023. № 4 (185). С. 75–82. <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15>.
4. Гладких Ф. В. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. *Клінічна та профілактична медицина України*. 2023. № 6 (28). С. 121–130. <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>.
5. Гладких Ф. В. Оцінка впливу кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин та кріоекстрактів біологічних тканин на прояви цитолітичного синдрому при експе-

риментальному аутоімунному гепатиті. *Одеський медичний журнал*. 2024. № 6 (191). С. 45–50. <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8>.

6. Гладких Ф. В. Сучасне уявлення про імунологічне підґрунтя ревматоїдного артриту: від посттрансляційної модифікації білків до застосування протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2023. Т. 11, № 4. С. 326–336. [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336).

7. Гладких Ф. В., Степанюк Н. Г., Степанюк Г. І. Фармакодинаміка ібупрофену крізь призму політропності вінборону. Вінниця: ТВОРИ, 2022. 120 с. <https://doi.org/10.46879/2022.2>

8. Стефанов О. В. (ред.). Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ: Авіцена, 2001. 527 с. URL: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77>.

9. Чиж М. О., Белочкіна І. В., Глоба В. Ю., Слета І. В., Михайлова І. П., Гладких Ф. В. Ультразвукове дослідження серця щурів після експериментального ураження епінефрином та застосування ксеноекстракту серця. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024. Т. 32, № 2 (49). С. 185–197. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>.

10. Alcaraz M. J., Compañ A., Guillén M. I. Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells as Novel Treatments for Musculoskeletal Diseases. *Cells*. 2019. Vol. 9, No. 1. Art. 98. <https://doi.org/10.3390/cells9010098>.

11. Almutairi K., Nossent J., Preen D., Keen H., Inderjeeth C. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review. *Rheumatology International*. 2021. Vol. 41, No. 5. P. 863–877. <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04731-0>.

12. Aviles-Herrera J., Angeles-Lopez G. E., Deciga-Campos M., Gonzalez-Trujano M. E., Moreno-Perez G. F., Reyes-Chilpa R., et al. Quercetin reduces antinociceptive but not the anti-inflammatory effects of indomethacin, ketorolac, and celecoxib in rats with gout-like pain. *Molecules*. 2025. Vol. 30, No. 15. Art. 3196. <https://doi.org/10.3390/molecules30153196>.

13. Cheng B. R., Chen J. Q., Zhang X. W., Gao Q. Y., Li W. H., Yan L. J., Zhang Y. Q., Wu C. J., Xing J. L., Liu J. P. Cardiovascular safety of celecoxib in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021. Vol. 16, No. 12. e0261239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261239>.

14. Edilova M. I., Akram A., Abdul-Sater A. A. Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Biomedical Journal*. 2021. Vol. 44, No. 2. P. 172–182. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.06.010>.

15. Ilchovska D. D., Barrow D. M. An Overview of the NF-κB mechanism of pathophysiology in rheumatoid arthritis, investigation of the NF-κB ligand RANKL and related nutritional interventions. *Autoimmunity Reviews*. 2021. Vol. 20, No. 2. Art. 102741. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102741>.

16. Kondo N., Kuroda T., Kobayashi D. Cytokine Networks in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, No. 20. Art. 10922. <https://doi.org/10.3390/ijms222010922>.

17. Kou M., Huang L., Yang J., Chiang Z., Chen S., Liu J., Guo L., Zhang X., Zhou X., Xu X., Yan X., Wang Y., Zhang J., Xu A., Tse H. F., Lian Q. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? *Cell Death & Disease*. 2022. Vol. 13, No. 7. Art. 580. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05034-x>.

18. Liu H., Li R., Liu T., Yang L., Yin G., Xie Q. Immunomodulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells and Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. Art. 1912. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01912>.

19. Meng H. Y., Chen L. Q., Chen L. H. The inhibition by human MSCs-derived miRNA-124a overexpression exosomes in the proliferation and migration of rheumatoid arthritis-related fibroblast-like synoviocyte cell. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2020. Vol. 21, No. 1. Art. 150. <https://doi.org/10.1186/s12891-020-3159-y>.

20. Meng Q., Qiu B. Exosomal MicroRNA-320a Derived From Mesenchymal Stem Cells Regulates Rheumatoid Arthritis Fibroblast-Like Synoviocyte Activation by Suppressing CXCL9 Expression. *Frontiers in Physiology*. 2020. Vol. 11. Art. 441. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00441>.

21. Park J. H., Lee D. K., Kang H., Kim J. H., Nahm F. S., Ahn E., In J., Kwak S. G., Lim C. Y. The principles of presenting statistical results using figures. *Korean Journal of Anesthesiology*. 2022. Vol. 75, No. 2. P. 139–150. <https://doi.org/10.4097/kja.21508>.
22. Pearson C., Wood F. D. Studies of polyarthritis and other lesions in rats by injection of mycobacterial adjuvant. I. General clinical and pathological characteristics and some modifying factors. *Arthritis & Rheumatism*. 1959. Vol. 2, No. 5. P. 440–459.
23. Rawla P. Cardiac and vascular complications in rheumatoid arthritis. *Reumatologia*. 2019. Vol. 57, No. 1. P. 27–36. <https://doi.org/10.5114/reum.2019.83236>.
24. Serdar C. C., Cihan M., Yücel D., Serdar M. A. Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies. *Biochemia Medica (Zagreb)*. 2021. Vol. 31, No. 1. 010502. <https://doi.org/10.11613/BM.2021.010502>.
25. Shi G., Liao X., Lin Z., Liu W., Luo X., Zhan H., Cai X. Estimation of the global prevalence, incidence, years lived with disability of rheumatoid arthritis in 2019 and forecasted incidence in 2040: results from the Global Burden of Disease Study 2019. *Clinical Rheumatology*. 2023. Vol. 42, No. 9. P. 2297–2309. <https://doi.org/10.1007/s10067-023-06628-2>.
26. Singh T., Laxmiraj B., Chukka R. C. H., Noor T. Cardiovascular Risk Management In Patients With Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Cureus*. 2024. Vol. 16, No. 4. e58409. <https://doi.org/10.7759/cureus.58409>.
27. Tavasolian F., Hosseini A. Z., Soudi S., Naderi M. miRNA-146a Improves Immunomodulatory Effects of MSC-derived Exosomes in Rheumatoid Arthritis. *Current Gene Therapy*. 2020. Vol. 20, No. 4. P. 297–312. <https://doi.org/10.2174/1566523220666200916120708>.
28. Thoman C. J. The versatility of polysorbate 80 (Tween 80) as an ionophore. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1999. Vol. 88, No. 2. P. 258–260. <https://doi.org/10.1021/js980216n>.
29. Wu J., Wu J., Liu Z., Gong Y., Feng D., Xiang W., Fang S., Chen R., Wu Y., Huang S., Zhou Y., Liu N., Xu H., Zhou S., Liu B., Ni Z. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in joint diseases: Therapeutic effects and underlying mechanisms. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2024. Vol. 48. P. 53–69. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2024.07.005>.
30. Zhang S., Duan Z., Liu F., Wu Q., Sun X., Ma H. The impact of exosomes derived from distinct sources on rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*. 2023. Vol. 14. Art. 1240747. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1240747>.
31. Zhou Y., Zhu Y., Wong W. K. Statistical tests for homogeneity of variance for clinical trials and recommendations. *Contemporary Clinical Trials Communications*. 2023. Vol. 33. Art. 101119. <https://doi.org/10.1016/j.conctc.2023.101119>.

REFERENCES

1. Bepalova, I. H. (2016). *Peptydnyi sklad ta biolohichna diia ekstraktiv kriokonservovanykh frahmentiv selezinky svynei ta shkiry porosiat* [Peptide composition and biological action of extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and piglet skin] (Candidate's thesis). Kharkiv. Retrieved from: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/> [in Ukrainian].
2. Hladkykh, F. V. (2024). Adjuvant Freinda – klasyka vaktsynalnykh adiuvantiv ta osnova eksperymentalnoi imunolohii [Freund's adjuvant: A classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology]. *Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho universytetu imeni V. N. Karazina. Seriya Medytsyna*, 32(3), 414–439. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10> [in Ukrainian].
3. Hladkykh, F. V. (2023). Bezklitynni biolohichni zasoby: fokus na kondytsionovani seredovyshecha mezenkhimalnykh stovburovykh klityn [Cell-free biological agents: Focus on mesenchymal stem cell conditioned media]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, 185(4), 75–82. <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15> [in Ukrainian].
4. Hladkykh, F. V. (2023). Mezenkhimalni stovburovi klityny: ekzosomy ta kondytsionovani seredovyshecha yak innovatsiini stratehii u likuvanni khvorykh na autoimunni zakhvoriuvannia [Mesenchymal stem cells: Exosomes and conditioned media as innovative strategies in the treatment of patients with autoimmune diseases]. *Klinichna ta profilaktychna medytsyna Ukrainy*, 6(28), 121–130. <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15> [in Ukrainian].

5. Hladkykh, F. V. (2024). Otsinka vplyvu kondytsionovanoho seredovyshcha mezenkhimalnykh stovburovykh klityn ta krioekstraktiv biologichnykh tkanyn na proiavy tsytolitychnoho syndromu pry eksperymentalnomu autoimmunomu hepadyti [Assessment of the effect of mesenchymal stem cell conditioned medium and cryoextracts of biological tissues on manifestations of cytolytic syndrome in experimental autoimmune hepatitis]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, 191(6), 45–50. <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-8> [in Ukrainian].

6. Hladkykh, F. V. (2023). Suchasne uiavlennia pro imunologichne pidgruntia revmatoidnoho artrytu: vid posttranslatsiinoi modyfikatsii bilkiv do zastosuvannia protyrevmatychnykh preparativ, shcho modyfikuiut khvorobu [Modern understanding of the immunological basis of rheumatoid arthritis: From post-translational protein modification to the use of disease-modifying antirheumatic drugs]. *Skhidnoukrainskyi medychnyi zhurnal*, 11(4), 326–336. [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(4\):326-336](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(4):326-336) [in Ukrainian].

7. Hladkykh, F. V., Stepaniuk, N. H., & Stepaniuk, H. I. (2022). *Farmakodynamika ibuprofenu kriz pryzmu politropnosti vinboronu* [Pharmacodynamics of ibuprofen through the prism of vinboron pleiotropy]. Vinnytsia: TVORY. <https://doi.org/10.46879/2022.2> [in Ukrainian].

8. Stefanov, O. V. (Ed.). (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv. Metodychni rekomendatsii* [Preclinical studies of medicinal products. Methodical recommendations]. Kyiv: Avitsena. Retrieved from: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77> [in Ukrainian].

9. Chyzh, M. O., Bielochkina, I. V., Hloba, V. Yu., Sleta, I. V., Mykhailova, I. P., & Hladkykh, F. V. (2024). Ultrazvukove doslidzhennia sertsia shchuriv pislia eksperymentalnoho urazhennia epinefrynom ta zastosuvannia ksenoekstraktu sertsia [Ultrasound examination of rat heart after experimental epinephrine injury and use of heart xenoextract]. *Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho universytetu imeni V. N. Karazina. Seriya Medytsyna*, 32, 2(49), 185–197. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06> [in Ukrainian].

10. Alcaraz, M. J., Compañ, A., & Guillén, M. I. (2019). Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells as novel treatments for musculoskeletal diseases. *Cells*, 9(1), 98. <https://doi.org/10.3390/cells9010098>

11. Almutairi, K., Nossent, J., Preen, D., Keen, H., & Inderjeeth, C. (2021). The global prevalence of rheumatoid arthritis: A meta-analysis based on a systematic review. *Rheumatology International*, 41(5), 863–877. <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04731-0>

12. Aviles-Herrera, J., Angeles-Lopez, G. E., Deciga-Campos, M., Gonzalez-Trujano, M. E., Moreno-Perez, G. F., Reyes-Chilpa, R., et al. (2025). Quercetin reduces antinociceptive but not the anti-inflammatory effects of indomethacin, ketorolac, and celecoxib in rats with gout-like pain. *Molecules*, 30(15), 3196. <https://doi.org/10.3390/molecules30153196>

13. Cheng, B. R., Chen, J. Q., Zhang, X. W., Gao, Q. Y., Li, W. H., Yan, L. J., Zhang, Y. Q., Wu, C. J., Xing, J. L., & Liu, J. P. (2021). Cardiovascular safety of celecoxib in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 16(12), e0261239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261239>

14. Edilova, M. I., Akram, A., & Abdul-Sater, A. A. (2021). Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Biomedical Journal*, 44(2), 172–182. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.06.010>

15. Ilchovska, D. D., & Barrow, D. M. (2021). An overview of the NF-κB mechanism of pathophysiology in rheumatoid arthritis, investigation of the NF-κB ligand RANKL and related nutritional interventions. *Autoimmunity Reviews*, 20(2), 102741. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102741>

16. Kondo, N., Kuroda, T., & Kobayashi, D. (2021). Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 10922. <https://doi.org/10.3390/ijms222010922>

17. Kou, M., Huang, L., Yang, J., Chiang, Z., Chen, S., Liu, J., Guo, L., Zhang, X., Zhou, X., Xu, X., Yan, X., Wang, Y., Zhang, J., Xu, A., Tse, H. F., & Lian, Q. (2022). Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: A next generation therapeutic tool? *Cell Death & Disease*, 13(7), 580. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05034-x>

18. Liu, H., Li, R., Liu, T., Yang, L., Yin, G., & Xie, Q. (2020). Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*, 11, 1912. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01912>

19. Meng, H. Y., Chen, L. Q., & Chen, L. H. (2020). The inhibition by human MSCs-derived miRNA-124a overexpression exosomes in the proliferation and migration of rheumatoid arthritis-related fibroblast-like synoviocyte cell. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 21(1), 150. <https://doi.org/10.1186/s12891-020-3159-y>
20. Meng, Q., & Qiu, B. (2020). Exosomal microRNA-320a derived from mesenchymal stem cells regulates rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte activation by suppressing CXCL9 expression. *Frontiers in Physiology*, 11, 441. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00441>
21. Park, J. H., Lee, D. K., Kang, H., Kim, J. H., Nahm, F. S., Ahn, E., In, J., Kwak, S. G., & Lim, C. Y. (2022). The principles of presenting statistical results using figures. *Korean Journal of Anesthesiology*, 75(2), 139–150. <https://doi.org/10.4097/kja.21508>
22. Pearson, C., & Wood, F. D. (1959). Studies of polyarthritis and other lesions in rats by injection of mycobacterial adjuvant. I. General clinical and pathological characteristics and some modifying factors. *Arthritis & Rheumatology*, 2(5), 440–459.
23. Rawla, P. (2019). Cardiac and vascular complications in rheumatoid arthritis. *Reumatologia*, 57(1), 27–36. <https://doi.org/10.5114/reum.2019.83236>
24. Serdar, C. C., Cihan, M., Yücel, D., & Serdar, M. A. (2021). Sample size, power and effect size revisited: Simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies. *Biochemia Medica (Zagreb)*, 31(1), 010502. <https://doi.org/10.11613/BM.2021.010502>
25. Shi, G., Liao, X., Lin, Z., Liu, W., Luo, X., Zhan, H., & Cai, X. (2023). Estimation of the global prevalence, incidence, years lived with disability of rheumatoid arthritis in 2019 and forecasted incidence in 2040: Results from the Global Burden of Disease Study 2019. *Clinical Rheumatology*, 42(9), 2297–2309. <https://doi.org/10.1007/s10067-023-06628-2>
26. Singh, T., Laxmiraj, B., Chukka, R. C. H., & Noor, T. (2024). Cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis: A systematic review. *Cureus*, 16(4), e58409. <https://doi.org/10.7759/cureus.58409>
27. Tavasolian, F., Hosseini, A. Z., Soudi, S., & Naderi, M. (2020). miRNA-146a improves immunomodulatory effects of MSC-derived exosomes in rheumatoid arthritis. *Current Gene Therapy*, 20(4), 297–312. <https://doi.org/10.2174/1566523220666200916120708>
28. Thoman, C. J. (1999). The versatility of polysorbate 80 (Tween 80) as an ionophore. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 88(2), 258–260. <https://doi.org/10.1021/js980216n>
29. Wu, J., Wu, J., Liu, Z., Gong, Y., Feng, D., Xiang, W., Fang, S., Chen, R., Wu, Y., Huang, S., Zhou, Y., Liu, N., Xu, H., Zhou, S., Liu, B., & Ni, Z. (2024). Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in joint diseases: Therapeutic effects and underlying mechanisms. *Journal of Orthopaedic Translation*, 48, 53–69. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2024.07.005>
30. Zhang, S., Duan, Z., Liu, F., Wu, Q., Sun, X., & Ma, H. (2023). The impact of exosomes derived from distinct sources on rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*, 14, 1240747. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1240747>
31. Zhou, Y., Zhu, Y., & Wong, W. K. (2023). Statistical tests for homogeneity of variance for clinical trials and recommendations. *Contemporary Clinical Trials Communications*, 33, 101119. <https://doi.org/10.1016/j.conctc.2023.101119>

COMBINED USE OF CELECOXIB AND CELL-FREE CRYOPRESERVED BIOLOGICAL PRODUCTS FOR THE CONTROL OF INFLAMMATION IN ADJUVANT ARTHRITIS

Drobner I.H.^{1,2}, Hladkykh F.V.^{1,3}, Liadova T.I.¹, Matvieienko M.S.¹, Student V. O.^{1,4,5}

Abstract. Rheumatoid arthritis is a common systemic autoimmune disease characterized by chronic synovitis, progressive joint destruction, and increasing disability. Symptomatic treatment with nonsteroidal anti-inflammatory drugs effectively reduces pain and edema; however, there is a need to identify approaches that can enhance anti-inflammatory efficacy and potentially reduce the necessity for long-term use. In preclinical models of arthritis, it is reasonable to evaluate combination regimens that integrate pharmacological suppression of inflammation with biological immunomodulation. The use of cell-free cryopreserved biological agents with immunomodulatory and reparative potential is considered promising.

Objective – to assess the effect of cell-free cryopreserved biological agents on the anti-inflammatory efficacy of celecoxib in a rat model of adjuvant-induced arthritis by monitoring limb edema dynamics.

Methods. The study was conducted in 42 rats randomized into 6 groups of 7 animals each. Adjuvant-induced arthritis was reproduced by subplantar injection of Freund's adjuvant (day 0). From days 14 to 28, celecoxib was administered orally at a dose of 10.0 mg/kg. Every 2 days, intramuscular injections of heart cryoextract (2.5 mL/kg) or spleen cryoextract (5.0 mL/kg), or mesenchymal stem cell conditioned medium (0.6 mL/kg) were given. Edema was assessed using an oncometer on days 0, 14, and 28.

Results. In control animals, edema of the affected limb increased to 8.2 conventional units on day 14 versus 4.1 conventional units on day 0 and remained high on day 28 (7.9 conventional units), indicating chronic inflammation. Celecoxib reduced edema to 5.5 conventional units on day 28, i.e., by 33.6% compared with controls ($p < 0.001$), with a significant decrease relative to day 14 ($p < 0.01$). Combinations with cell-free cryopreserved biological agents provided an additional reduction to 5.2 (heart cryoextract), 5.1 (spleen cryoextract), and 5.0 conventional units (mesenchymal stem cell conditioned medium). Between-group differences versus celecoxib monotherapy were not statistically significant ($p = 0.08–0.16$), but the most pronounced trend was observed for the conditioned medium, consistent with a potential multitarget immunomodulation of the inflammatory focus in this model.

Conclusions. Rats with adjuvant-induced arthritis developed a persistent inflammatory edema response up to day 28. Celecoxib reduced edema compared with untreated animals. The addition of cell-free cryopreserved biological agents did not attenuate the effect and showed a trend toward further reduction, most evident for mesenchymal stem cell conditioned medium.

Key words: inflammation, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, mesenchymal stem cells, arthritis, celecoxib, cryoextracts.

Дробнер Ігор Гаррієвич, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-4753-7366>

Гладких Федір Володимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>

Лядова Тетяна Іванівна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>

Матвієнко Марія Сергіївна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>

Студент Володимир Омелянович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0928-2695>

Creative Commons Attribution 4.0
International (CC BY 4.0)



Дата першого надходження статті до видання: 27.02.2026

Дата прийняття статті до друку після рецензування: 20.03.2026

Дата публікації (оприлюднення) статті: 27.05.2026