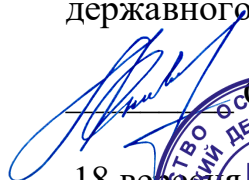


УДК 577.2, 612; 591.1 + 577 + 602
№ держреєстрації: 0120U101313

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
вул. Шевченка, 14, м. Івано-Франківськ, 76000. Тел. +380963102636;
e-mail: office@ksu.ks.ua; <http://www.kspu.edu>

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор Херсонського
державного університету


Олександр СПІВАКОВСЬКИЙ
18 вересня 2025 року


ЗВІТ ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЦИТОКІНІВ В УМОВАХ IN VITRO
(заключний)

Перший проректор
д.пед.н., професор



Сергій ОМЕЛЬЧУК

Наукова керівниця НДР
к.б.н., доцентка



Анастасія ШКУРОПАТ

Івано-Франківськ – Херсон

2025

СПИСОК АВТОРІВ

Керівниця НДР,
доцентка кафедри біології
людини та імунології



А.В. Шкуропат
(Вступ, Розділ 1, 3,
висновки)

Відповідальний виконавець
викладачка кафедри біології
людини та імунології



В.А. Швець
(Розділ 2, список
літературних джерел)

АНОТАЦІЯ

Об'єкт дослідження – біологічна дія еритропоєтину та ІЛ-2.

Предмет дослідження – зміна біохімічних параметрів органотипових культур печінки, головного мозку, скелетних м'язів під впливом еритропоєтину та ІЛ-2.

Методи дослідження. Для досягнення поставлених мети та завдань використовувалися такі методи: аналіз сучасних наукових джерел, методи органотипової культури, біохімічні методи, методи математичної статистики.

Вивчали вплив цитокінів еритропоєтину та ІЛ-2 в різних концентраціях на біохімічні показники органотипових культур печінки, головного мозку та скелетних м'язів.

Отримані нові результати для розуміння впливу еритропоєтину та ІЛ-2 на біохімічні показники органотипових культур печінки, головного мозку та скелетних м'язів. Культивування органотипових культур печінки із ІЛ-2 не мало вплив на синтетичну активність гепатоцитів, збільшувало активність АЛТ, проте сприяло збереженню цілісності мітохондріальних мембран. Еритропоєтин у середній концентрації не мав ані цитопротекторного ефекту, ані цитотоксичного. У високій концентрації спостерігалася пригнічення синтетичної активності гепатоцитів, проте еритропоєтин в високій концентрації виявляв цитопротекторну дію. При низьких концентраціях також еритропоєтин збільшував синтетичну активність, але і підвищував активність мітохондріальних амінотрансфераз. Це може вказувати як на цитотоксичну дію, так і на інтенсифікацію процесів трансамінування.

ІЛ-2 викликав збільшення інтенсивності поглинання глюкози в усіх органотипових культурах порівняно із контрольними зразками. Еритропоєтин викликав збільшення інтенсивності поглинання глюкози лише в органотипових культурах скелетних м'язів. Це свідчить про те, що цитокіни мають вплив на глюкозні транспортери та інтенсивність поглинання глюкози як базового механізму життєдіяльності клітини.

Ключові слова: цитокіни, еритропоетин, ІЛ-2, органотипові культури, інтенсивність поглинання глюкози, АЛТ, АСТ, загальний білок

ANNOTATION

Object of the study is the biological action of erythropoietin and IL-2.

Subject of the study is the change in biochemical parameters of organotypic cultures of the liver, brain, and skeletal muscles under the influence of erythropoietin and IL-2.

Research methods. To achieve the set goals and objectives, the following methods were used: analysis of modern scientific sources, methods of organotypic culture, biochemical methods, methods of mathematical statistics.

The effect of cytokines erythropoietin and IL-2 in different concentrations on biochemical indicators of organotypic cultures of the liver, brain, and skeletal muscles was studied.

New results were obtained for understanding the effect of erythropoietin and IL-2 on biochemical indicators of organotypic cultures of the liver, brain, and skeletal muscles. Cultivation of organotypic liver cultures with IL-2 had no effect on the synthetic activity of hepatocytes, increased ALT activity, but contributed to the preservation of the integrity of mitochondrial membranes. Erythropoietin at medium concentration had neither cytoprotective nor cytotoxic effect. At high concentration, inhibition of synthetic activity of hepatocytes was observed, however, erythropoietin at high concentration exhibited cytoprotective effect. At low concentration, erythropoietin also increased synthetic activity, but also increased the activity of mitochondrial aminotransferases. This may indicate both cytotoxic effect and intensification of transamination processes.

IL-2 caused an increase in the intensity of glucose absorption in all organotypic cultures compared to control samples. Erythropoietin caused an increase in the intensity of glucose absorption only in organotypic cultures of skeletal muscles. This indicates that cytokines have an effect on glucose transporters and the intensity of glucose absorption as a basic mechanism of cell life.

Keywords: cytokines, erythropoietin, IL-2, organotypic cultures, glucose uptake rate, ALT, AST, total protein

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. Огляд літературних джерел.....	9
1.1. Застосування органотипових культур в наукових дослідженнях	9
1.1.1. Переваги та недоліки застосування органотипових культур..	9
1.1.2. Органотипові культури головного мозку	12
1.1.3. Органотипові культури печінки	13
1.1.4. Органотипові культури скелетних м'язів	16
1.2. Роль цитокінів в організмі	18
1.2.1. Вивчення впливу еритропоєтину в наукових дослідженнях..	18
1.2.2. Вивчення впливу ІЛ-2 в наукових дослідженнях.....	21
РОЗДІЛ 2. Матеріали і методи дослідження	24
2.1. Матеріали та умови проведення дослідів	24
2.2. Визначення біохімічних показників органотипових культур в умовах стимуляції цитокіновими препаратами	25
РОЗДІЛ 3. Аналіз та обговорення отриманих результатів	28
3.1. Аналіз отриманих результатів	28
3.2. Обговорення отриманих результатів	35
ВИСНОВКИ.....	40
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	41
Додаток А. Список публікацій виконавців НДР за тематикою досліджень	47

ВСТУП

Актуальність теми. Цитокіни є ключовими сигнальними молекулами, що відіграють центральну роль у регуляції імунної відповіді, запальних процесів, проліферації, диференціюванні та регенерації тканин, визначають основні процеси життєдіяльності клітин. Їхня здатність впливати на проліферативні процеси, диференціювання та функціональний стан клітин робить їх об'єктом інтенсивних досліджень у біології та медицині. Особливий інтерес становлять такі цитокіни, як еритропоєтин (ЕПО), відомий своєю роллю в еритропоезі, та інтерлейкін-2 (ІЛ-2), що є основним фактором росту для Т-лімфоцитів. Еритропоєтин застосовується в клінічній практиці для лікування анемій. ІЛ-2 знайшов своє застосування при певних видах онкопатологій. Попри досить широко вивчену роль цих цитокінів, розуміння негематопоетичних та неімунологічних ефектів цих цитокінів, зокрема їхнього впливу на інші органи та тканини, залишається недостатньо висвітленим. В свою чергу вивчення негематологічних та неімунологічних впливів має вирішальне значення для оцінки потенційних побічних ефектів при їхньому клінічному застосуванні, можливих нових терапевтичних стратегій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Робота є завершальним звітом за науково-дослідною темою «Дослідження впливу цитокінів в умовах *in vitro*» (номер держреєстрації 0120U101313).

Мета і задачі дослідження. Метою роботи є з'ясувати механізми дії цитокінів на параметри органотипових культур та культур клітин *in vitro*.

Для досягнення мети були поставлені та вирішені наступні завдання дослідження:

- 1) вивчити інтенсивність поглинання глюкози органотиповими культурами в умовах цитокінової стимуляції;
- 2) дослідити концентрацію білка органотипових культур печінки в умовах цитокінової стимуляції;
- 3) визначити активність АЛТ та АСТ органотипових культур печінки в

умовах цитокінового навантаження.

Об'єкт дослідження – біологічна дія еритропоєтину та ІЛ-2.

Предмет дослідження – зміна біохімічних параметрів органотипових культур печінки, головного мозку, скелетних м'язів під впливом еритропоєтину та ІЛ-2.

Методи дослідження. Для досягнення поставлених мети та завдань використовувалися такі методи: аналіз сучасних наукових джерел, методи органотипової культури, біохімічні методи, методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Отримані нові результати для розуміння впливу еритропоєтину та ІЛ-2 на біохімічні показники органотипових культур печінки, головного мозку та скелетних м'язів. Показано, що досліджувані речовини мали вплив на інтенсивність поглинання глюкози, концентрацію білка, активність АЛТ та АСТ органотипових культур. Виявлений вплив цитокінів був дозозалежним.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можна використати для створення оптимальних середовищ для культивування органотипових культур, впливати на їхню виживаність. Виявлений вплив цитокінів на інтенсивність поглинання глюкози може використовуватись для прогнозування побічних ефектів при застосуванні даних препаратів. Отримані результати дослідження можна застосовувати під час викладання курсів “Загальна цитологія та гістологія” та “Біотехнологія”.

Апробація результатів дослідження. Основні положення науково-дослідної роботи викладені у 2-х статтях категорії А, 1 статті категорії Б та 1 навчально-методичному посібнику. Експериментальні результати обговорювалися на науковому семінарі кафедри біології людини та імунології Херсонського державного університету.

Робота складається із наступних розділів: вступ, три розділи, висновки, список використаних джерел; містить 6 рисунків.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1.1 Застосування органотипових культур в наукових дослідженнях

1.1.1. Переваги та недоліки застосування органотипових культур

Етичні, економічні та практичні причини створюють передумови для пошуку ефективніших та результативніших способів дослідження впливу різноманітних речовин на органи та організм в цілому, вивчення процесів в нормі та патології. Культури клітин є важливою методикою для дослідження різноманітних впливів на однорідні клітини. Культури клітин зараз є багатомільярдною технологією, яка є невід'ємною частиною численних академічних, урядових та промислових досліджень. На сьогодні важко уявити галузь біології, яка б не використовувала в тій чи іншій мірі методи культури клітин та тканин. Їх застосування дозволяє детально вивчити ультраструктуру окремих клітин за допомогою електронної мікроскопії [25], вивчити поділ клітин, їхню рухливість [19]. Вивчення потреб клітин у культурі дозволило охарактеризувати клітинне живлення, відмінності у потребах різних типів клітин, створити селективні середовища [5]. Культури клітин зіграли непересічну роль у вивченні впливу гормонів, факторів росту та інших регуляторних речовин. Саме культивування клітин дозволило встановити обмеженість тривалості життя клітин та описати ліміт Хейфліка [7]. Культури клітин успішно застосовуються для вивчення фармакодинаміки та кліренсу лікарських сполук.

Проте, моношарові культури мають ряд недоліків. По-перше, це швидка втрата диференційованого стану та дедиференціація. По-друге, залишається незрозумілою роль стромального компоненту тканини у підтримці процесу диференціації. Системи культивування 3D, зокрема органотипові культури, дозволяють дослідити питання ролі стромального компонента у диференціації та підтримці диференційованого стану паренхіми, здійсненні нею своїх функцій [9].

Органотипові культури є перспективним напрямом біологічної науки *in vitro*. Моношарові культури клітин були розроблені переважно для нарощування клітинної маси та досягнення проліферації клітинної маси. Для вивчення міжклітинних взаємодій та функцій клітин більш вдалою моделлю є органотипові культури.

У зв'язку зі збільшенням кількості дослідів із використанням лабораторних тварин, застосування клітинних культур постає як необхідний метод, що сприятиме зменшенню їх залучення. Такі моделі *in vitro*, як культури клітин, мають ряд переваг в порівнянні використанням лабораторних тварин з метою вивчення впливу різноманітних речовин. Пропускна здатність досліджень із залученням лабораторних тварин є достатньо низькою порівняно із використанням культур клітин [12]. Результати досліджень, отримані на лабораторних тваринах, не завжди можливо екстраполювати на людський організм через відмінність фізіологічних процесів. Проте, і культури клітин мають ряд недоліків. Вони є працемісткими, затратними і не завжди результат, отриманий на культурі клітин одного типу можна перенести на макроорганізм. Моношарові культури не відображають функції всього організму через те, що в такі культури складаються переважно з одного типу клітин та важко екстраполювати отримані результати на весь організм.

Проміжне положення між культурами клітин та лабораторними тваринами займають органотипові культури. Вперше такі культури були використані для вивчення фармакологічного впливу речовин на нервові клітини [10, 19, 34]. Органотипові культури використовуються для створення систем оцінки ефективності ліків при різноманітних патологічних процесах, зокрема, онкологічному рості. Їх використовують для розробки нових підходів персоналізованої медицини [29, 33]. Органотипові культури активно використовуються при вивченні метастатичного процесу при різноманітних пухлинах (молочної залози, легень, нервової системи, підшлункової залози). Окрім того, органотипові культури є вдалим об'єктом для спостереження за взаємодією нормальних та онкологічних клітин в режимі реального часу та

формуванні уявлення про формування пухлинного середовища.

Органотипові культури представляють собою тонкі зрізи тканин чи органів, що культивуються в живильному середовищі. Збереження гістофізіологічних зв'язків відображує мікрооточення тканин, що дозволяє вивчати фізіологічні процеси в нормі та патології. Внаслідок цього є можливість вивчати морфофункціональні зміни клітин у відповідь на дію різноманітні агенти. Оскільки клітини в органотипових культурах практично не втрачають свого фенотипу, зберігають мікрооточення та клітинне різноманіття окремих тканин, то морфофункціональні зміни в таких культурах будуть наближені до процесів *in vivo* [8, 15, 39, 41].

Перші культури органотипових культур на основі зрізів органів були розроблені для вивчення ефектів фармацевтичних препаратів на нервову тканину. Органотипові культури проявили потенціал у дослідженнях пухлинних процесів, процесів метастазування, створення пухлинного мікрооточення. Ці моделі використовуються для тестування протипухлинних препаратів. Використання органотипових культур дозволяє отримані результати переносити на цілі органи, оскільки зберігають взаємозв'язки та тканини, притаманні цим органам. Так, вивчення механізму метастатичного росту онкопатології молочної залози, легень, аденокарциноми підшлункової залози та гліоми проводилося на органотипових культурах відповідних органів. Зрізи для культивування, вирізані з пухлин та оточуючих їх тканин, відображають метаболічну активність пухлин та мікрооточення, гетерогенність пухлин [11-14].

Окрім онкопатологій, органотипові культури є вдалою моделлю для вивчення імунологічних процесів. Використання цієї методики дозволяє спостерігати за клітинами в режимі реального часу, вивчаючи їх міграції. Айземанн продемонстрував, що органотипові зрізи інвазивної гліоми зберігають структурну цілісність протягом всього експерименту. В дослідженнях з використанням органотипових культур протокової аденокарциноми підшлункової залози було продемонстровано, що маркери строми підшлункової залози (віментин), гладких м'язів (актин, CD34) зберігалися в зрізах до 72 годин

[5, 37, 43]. Окрім маркерів зберігався і ступінь диференціювання. Важливим є те, що не відбувалося дедиференціювання, що притаманно моношаровим культурам. Тобто, органотипові культури є неоцінним інструментом для вивчення взаємодії між паренхімним та стромальним компонентом.

1.1.2 Органотипові культури головного мозку

Необхідність вивчення фізіології центральної нервової системи людини створює передумови для створення моделей *in vitro*, що дозволяють відтворити складну нейронну мережу та взаємодію між нейронами і нейроглією. Органотипові культури, що готують з експлантів головного мозку, зберігає різноманітність типів нейронів, загальну життєздатність, взаємодії між нейронами та нейроглією. Культивування нейронів в моношарових культурах призводить до втрати ними властивої цитоархітекτονіки. Застосування індукованих плюрипотентних стовбурових клітин дозволяє використовувати для дослідження органоїди головного мозку. Проте, хоча вони і імітують поширену будову кори головного мозку, вони не містять всіх типів клітин нервової тканини і наближені за будовою до головного мозку новонародженого. Тому органоїди головного мозку як модель *in vitro* є відносно примітивною моделлю для вивчення складних процесів, що відбуваються у нервовій системі [24-28].

Популярною моделлю для вивчення фізіології головного мозку, поведінкових реакцій є гризуни. Проте, лабораторні тварини як модельний об'єкт мають ряд недоліків. Це етичний бік питання. Окрім того, мозок людини є складнішим в організації за мозок миші. Стрес, який переживає тварина під час експерименту може суттєво вплинути на його результати.

Моделями, які точно імітують цитоархітекτονіку головного мозку є органотипові культури, виготовленні з експлантів головного мозку. Такі культури зберігають життєздатність та цитоархітекτονіку протягом кількох тижнів культивування. Культивування зрізів головного мозку зробило можливим вивчення багатьох аспектів фізіології головного мозку в нормі та патології. Такий підхід до культивування дозволяє суттєво збільшити часовий

проміжок експерименту для нервової тканини, при цьому спектр маніпуляцій, що може бути застосований в експерименті. Органотипові культури головного мозку демонструють збереження електричної активності. Так, Юджин та співавтори продемонстрували електричну активність гіпокампу у живильному середовищі, що зберігалася протягом 29 діб культивування [5]. Культивування зрізів тканини головного мозку виявилися дуже вдалою моделлю для вивчення метастазування злоякісних пухлин, наприклад гліом [6, 24, 33]. Використання даної методики дозволило вивчити вплив спинномозкової рідини на функціональний стан нейронів [6, 24, 33].

Органотипові культури головного мозку зберігають структурну цілісність синаптичних зв'язків між нейронами, відображає взаємодії між нейронами та нейроглією. Наприклад, вивчення впливу холінергічних нейронів дозволяє досліджувати механізми розвитку хвороби Альцгеймера. На дофамінергічних нейронах вентрального мезенцефалону органотипових зрізів головного мозку вивчають розвиток Паркінсона. Також завдяки використанню органотипових культур головного мозку стало можливим вивчення механізму розвитку інсульту, епілепсії, тощо.

1.1.3 Органотипові культури печінки

Органотипові культури печінки, або зрізів печінки, є методом, при якому однорідні зрізи печінки зберігаються в живильному середовищі. Органотипові культури печінки, що виготовлені зі зрізів органів, є цінним інструментом для вивчення вродженого імунітету. Зрізи для культивування печінки можна отримувати з різних видів, проте найчастіше використовують мишей та людей. Отримання зрізів печінки для введення в органотипову культуру з печінки мишей має ряд переваг: тканини та органи мишей є доступними в більшості лабораторіях, використання нокаутних та рекомбінантних тварин суттєво розширює можливості експериментальної діяльності [7, 14, 28].

Гістофізіологічні особливості печінки мишей та людини загалом подібні, однак існують певні відмінності в макроструктурі органа. Зокрема, у людини

печінка не має часткової будови. Гістологічна структура печінки в обох видів істотно подібна. Водночас спостерігаються відмінності у видоспецифічних рецепторах і в імунному мікрооточенні органа. Це створює труднощі для проведення експериментів, спрямованих на вивчення трансляційних процесів і транскрипційної регуляції [13].

Вивчення дії лікарських речовин на органотипові культури печінки є необхідним не тільки для тих ліків, які безпосередньо впливають на печінку. Оскільки печінка має особливу функцію в організмі - детоксикація та метаболізм ліків - для вивчення гепатотоксичного ефекту ліків органотипові культури можуть стати безцінним інструментом. Моношарові культури гепатоцитів підходять для вивчення короткострокових наслідків, токсичності тощо, проте встановити наслідки гострого та, особливо, хронічного впливів з використанням виключно моношарових культур неможливо. Наприклад, моношарові культури не дають відповіді на питання, щодо виникнення імунної реакції у відповідь на вплив на клітини печінки. Для вияву імунної реакції потрібна взаємодія принаймні між трьома гістологічними елементами органів - гепатоцитами, ендотеліальними клітинами та клітинами Купфера (рис. 1.1).

Комунікації між клітинами паренхіми та строми печінки відіграють ключову роль в підтримці нормального функціонування печінки та її відповіді на вплив гепатотоксичних речовин за допомогою паракринних чинників регуляції. Паракринна регуляція є основною формою регуляції в епітеліально-мезенхімальних взаємодіях. Важливу роль в цих взаємовідносинах відіграє матрикс. Такі молекули матриксу, як протеоглікани (гепарансульфат, гепарин) мають багато сайтів зв'язування факторів росту, таким чином забезпечуючи стабільне надходження цих молекул, їх зберігання.

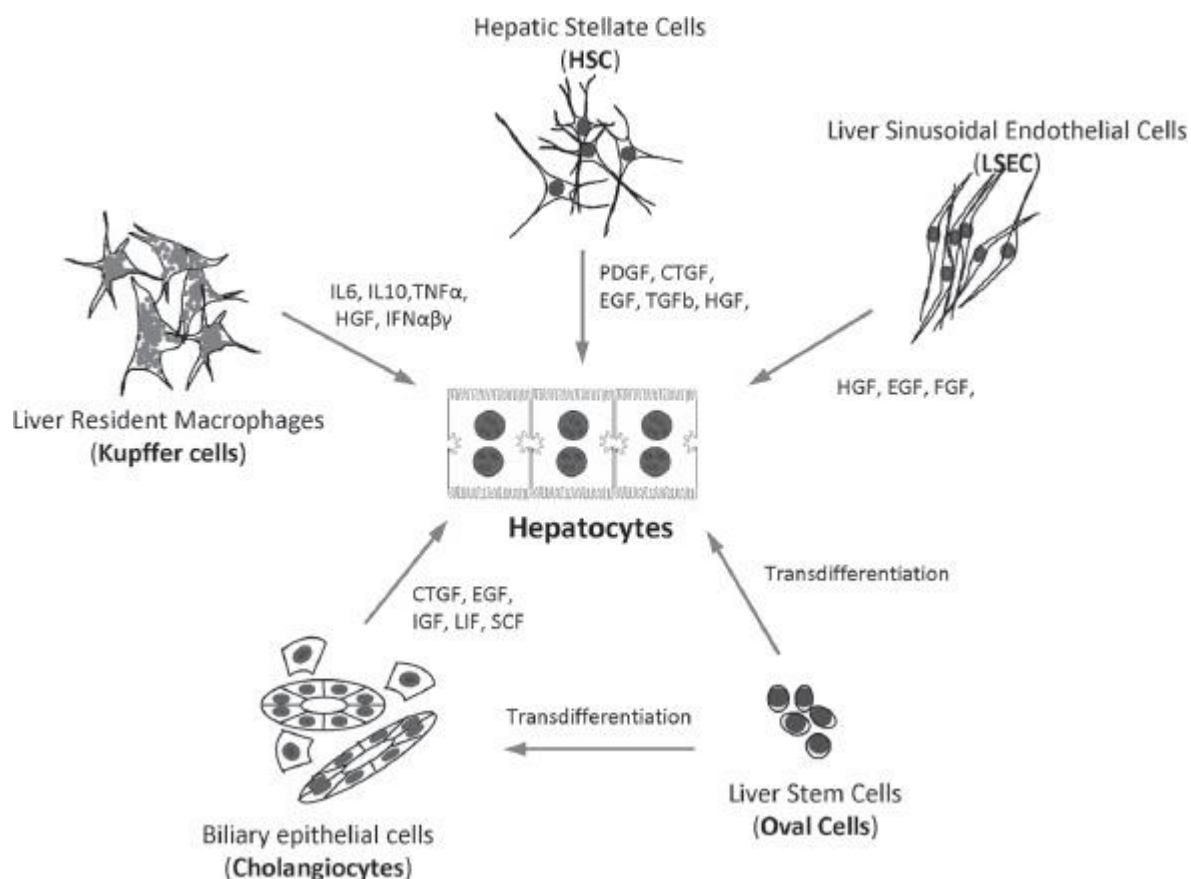


Рис. 1.1. - Взаємодія між паренхімними та непаренхімними клітинами печінки 2012 Informa Healthcare USA, Inc.

Виходячи із наведених складних відносин між окремими компонентами тканин печінки стає очевидно, що моношарові та іморталізовані культури гепатоцитів через втрату фенотипу призводить до втрати фізіологічного контексту. Вивчення гепатотоксичності *in vivo* пов'язано із гістофізіологічними особливостями кожного типу клітин. Дуже важливим для розуміння впливу на печінку є унікальні тривимірні взаємодії між клітинами, що формують печінкові часточки [37-40]. Тому монокультурні моделі гепатоцитів є неоптимальними моделями для тестування різних речовин. Основна проблема моношарових культур гепатоцитів заключається в тому, що в цих культурах відбувається варіабельне прикріплення до поверхні посуду, втрата гістотипової архітектури, полярності клітин та функції гепатоцитів. Також моношарові культури, як правило, складаються з одного типу клітин, що обмежує масштабування отриманих результатів на весь орган. Органотипові культури дозволяють обійти

зазначені обмеження [14]. Такий формат культури зберігає природну молекулярну та клітинну складність печінки [38].

1.1.4. Органотиві культури скелетних м'язів

Скелетні м'язи становлять значну частину маси тіла - майже 40% і є однією із найактивніших метаболічних тканин, що адаптується до різних джерел енергії. У стані спокою скелетні м'язи споживають до 30% енергії, а під час роботи - до 80%. Скелетні м'язи утилізують до 75% спожитої глюкози через інсулінозалежний механізм. Окрім того, м'язова тканина накопичує глікоген. Вікова втрата м'язової маси є серйозною проблемою, що може призводити до інвалідизації і, навіть, летальних випадків [2].

Історично дослідження скелетних м'язів проводили із залученням лабораторних тварин. Проте, лабораторні тварини мають певні відмінності у фізіології скелетних м'язів, і не завжди результати, отримані на тваринних моделях можна перенести на людей. Окрім того, є специфічні хвороби, які зустрічаються лише у людини, наприклад м'язова дистрофія Дюшена [2, 23, 36].

Розвиток техніки культивування дозволив культивувати м'язові волокна у 2D-культурах на твердих носіях. Моношарові культури переважно використовують для вивчення біології скелетних м'язів. Найчастіше для створення таких культур використовують клітинні лінії мишачих міобластів C2C12, що були отримані із міосателітоцитів дорослих мишей. Поміщаючи їх у живильне середовище із великим вмістом сироватки, міобласти починали активно ділитися. Якщо після цього знизити рівень сироватки, то міобласти протягом 72 годин починають зливатися у багатоядерні міотрубочки. Ще до поширених 2D-культур відносять культури міобластів щурів L6 та L8. Однак, хоч це і іморталізовані культури, з міобластів утворюються переважно м'язові волокна II типу, що накладає певні обмеження на отримані результати. Завдяки таким культурам були з'ясовані молекулярні механізми та сигнальні шляхи злиття міобластів в міотрубочки з подальшим диференціюванням у м'язові

волокна. Проте ці культури не відображають тривимірної організації скелетної м'язової тканини. Цікавим напрямом моношарових культур є використання індукованих плюрипотентних стовбурових клітин з подальшою стимуляцією диференціювання у м'язові волокна людини. Така методика може лягти в основу персоніфікованої медициною. Проте, традиційні 2D-культури мають обмеження в моделюванні певних функціональних порушень, що пов'язані із дефіцитом скороченої функції [36].

Скелетний м'яз є складною гетерогенною тканиною. До складу скелетного м'язу входить багатоядерні м'язові волокна, нем'язові клітини такі як ендотеліальні клітини, фібробласти, перицити, макрофаги, нейрони. Всі клітини приймають участь у підтримці гомеостазу м'язової тканини. Органотипові зрізи скелетних м'язів дають можливість одночасного культивування всіх клітин одночасно.

Органотипові культури скелетних м'язів, що культивувалися сумісно з органотиповими культурами спинного мозку використовували для вивчення впливу фосфорорганічних сполук на нервово-м'язові синапси, при цьому було проведено фармакологічне тестування ботулотоксину В, що використовується для лікування дистонії [5]. Завдяки використанню 3D-моделей був відтворений механізм патології, що розвивається при м'язовій дистрофії Дюшена, що прискорить подальші доклінічні дослідження. Техера-Віллафранка та ін. створили систему культивування 3D-культур скелетних м'язів від пацієнта із м'язовою дистрофією Дюшена, що дозволило створити модель розвитку втомленого м'язового волокна та мікророзриви, що виникають при скороченні м'яза *in vivo* [36].

Використання 3D-культур дозволило встановити патологічний механізм лімб-поясових м'язових дистрофій (LGMD). LGMD - це група генетичних захворювань м'язової системи, що уражають м'язи стегна та плеча. Було продемонстровано, що міопатія LGMD2A супроводжується порушенням організації міофібрил, прогресом втрати структурної цілісності, та зниженням скоротливої функції. Міопатія LGMD2B мала інший патологічний механізм, що

також був встановлений завдяки 3D-культурам. В цьому випадку скоротлива функція порушується через дефектне перетворення кальцію та змінену регуляцію генів, що пов'язані із окислювальним метаболізмом [5].

Завдяки 3D-культурам скелетних м'язів встановлена етіологія та патогенез таких захворювань, як міотонічна дистрофія I типу, фасціокапулогумеральна дистрофія, хвороба Помпе, м'язова дистрофія Емері-Дрейфуса та полігенних м'язових захворювань (саркопенія, зміни скелетної мускулатури при ожиріння та метаболічному синдромі, ліпідну інфільтрація скелетних м'язів). Це робить 3D-культури скелетних м'язів потужним інструментом для моделювання різноманітних захворювань [23, 36].

Беззаперечним мінусом всіх культур скелетних м'язів *in vitro* є відсутність іннервації. В умовах *in vivo* денервація призводить до саркопенії (втрати м'язової маси), дезорганізації саркомерів, зменшення кількості волокон II типу. 3D-культури скелетних м'язів, створені біоінженерним шляхом, мають ряд недоліків, як наприклад, відсутність всього спектру клітин, присутніх в живому м'язі. Частіше такі моделі містять м'язові волокна, фібробласти. У нативній м'язовій тканині спектр допоміжних клітин набагато ширший, а використання органотипових культур скелетних м'язів можуть допомогти подолати ці перешкоди [5, 2, 23, 36].

1.2. Вивчення ролі цитокінів в організмі

1.2.1. Вивчення впливу еритропоєтину в наукових дослідженнях

Різнманітні позаклітинні сигнали, такі як фактори росту, цитокіни, гормони, молекули позаклітинного матриксу, тощо, мають важливе значення у транскрипції тих чи інших генів, і відповідно, того фенотипу, що буде мати клітина.

Еритропоєтин відноситься до надродини цитокінів 1 типу. Класично, його еритропоєтин прийнято вважати гормоном, що стимулює еритропоез. Виявилося, що рецептори до еритропоєтину - EPOR- є багатьох тканинах хребетних, а подальші дослідження виявили цитопротекторну локальну дію.

Еритропоетин (ЕПО) — це глікопротеїновий гормон, що відіграє ключову роль у регуляції еритропоезу, процесу утворення червоних кров'яних тілець, або еритроцитів. Цей гормон виробляється переважно нирками, а також, у меншій кількості, печінкою [10].

Основна функція ЕПО — це стимулювання кісткового мозку до збільшення виробництва еритроцитів. Цей процес відбувається у відповідь на гіпоксію, тобто зниження рівня кисню в крові. У відповідь на гіпоксію, нирки виділяють ЕПО, який потрапляє в кров'яне русло і транспортується до червоного кісткового мозку [22]. Там ЕПО зв'язується зі специфічними рецепторами на поверхні клітин-попередників еритроцитів, що запускає каскад внутрішньоклітинних сигналів. Це призводить до проліферації попередників еритроцитів, диференціація та запобігання апоптозу. У результаті цього, кількість еритроцитів у крові зростає, що покращує її здатність транспортувати кисень і усуває гіпоксію.

Синтетичні форми еритропоетину, відомі як рекомбінантний людський еритропоетин (rHuEPO), використовуються для лікування анемії, пов'язаної з хронічною нирковою недостатністю, хіміотерапією та деякими іншими станами.

Еритропоетин має нейропротекторний ефект. Окрім того еритропоетин обмежував тканинну травму спричинену ішемією та запаленням головного мозку або інших органів. Тканинний захисний ефект еритропоетина може бути опосередкованим загальним VcR або CD 131 рецептором, що є субодиницею передачі сигналу, яка є спільною для субодиниць α -ланцюга інтерлейкіну-5, рецептору інтерлікіну-3 і гранулоцитарного й моноцитарного колоністимулюючого фактору [3].

Окрім того еритропоетин виявляв проти апоптичний ефект. Комплекс рецептору EPOR+ VcR може виявляти себе як тканиннозахисний рецептор еритропоетину. Було продемонстровано, що тканиннозахисті ефекти еритропоетину не виявлялися при відсутності рецептора VcR. Еритропоетин є важливим регуляторним фактором, що дозволяє підтримувати клітинний гомеостаз. У стані спокою EPOR та VcR локалізується в середині клітини. У разі

виникнення гіпоксії або впливу прозапальних цитокінів відбувається швидка транслокація рецепторів у плазмолему. Продукція фактору, індукованого гіпоксією (HIF), збільшується при наростанні гіпоксії та призводить до посилення продукції еритропоетину. Прозапальний цитокін TNF- α , навпаки, пригнічує вироблення еритропоетину. В умовах гіпоксії еритропоетин стимулює ріст пухлинних клітин [25].

Еритропоетин може зв'язувати тканини захисний рецептор TPR. Було показано, що в центрі масштабного ураження клітини експресують TPR, але через високі концентрації прозапальних цитокінів, клітини гинуть. На периферії ураження концентрація прозапальних цитокінів набагато менша і це дозволяє еритропоетину зв'язуватися з TPR [26].

Еритропоетин модулює імунізаційний ефект імунними клітинами. прийом еритропоетину призводив до зниження продукції прозапальних цитокінів TNF- α , IL-6, IL-1 β та iNOS (індуцибельна синтетаза оксиду азоту) макрофагами. Окрім того, еритропоетин зменшував тривалість інфільтрації запальними макрофагами, призводив до зміщення фенотипу макрофагів в бік M2, сприяв здійсненню ними протизапальної дії та загоєнню тканини. Проте, ці ефекти відбувалися лише за присутністю IL-4. Еритропоетин полегшував очищення від апоптичних тілець макрофагами без виникнення запальної реакції [33].

Було продемонстровано, що еритропоетин покращує непереносимість глюкози шляхом активації інсулінозалежного глюкозного транспортера GLUT4 у скелетних м'язах. Лікування еритропоетином знизило рівень сироваткової глюкози. Дослідження впливу еритропоетину на інші глюкозні транспортери є суперечливими. Тривалий вплив еритропоетину покращував утилізацію глюкози за рахунок зниження інсулінорезистентності, тобто мав цукрознижувальний ефект *in vivo*. У дослідженнях на культурах адипоцитів було продемонстровано підвищення поглинання глюкози під впливом еритропоетину. Такий ефект спостерігався навіть у тих адипоцитах, що культивувалися у гіперглікемічному середовищі. Cayla та інші показали зміни у здатності поглинати глюкозу скелетними м'язами у тренуваних щурів та щурів з гіподинамією під впливом

еритропоєтин. Так, у дослідженні [17] було показано, що еритропоєтин практично не впливав на рівень експресії глюкозного транспортера GLUT2.

1.2.2. Вивчення впливу ІЛ-2 в наукових дослідженнях

Інтерлейкін-2 (ІЛ-2) — це прозапальним цитокін, який відіграє критичну роль у функціонуванні імунної системи, зокрема у активації, проліферації та диференціації Т-лімфоцитів. Він є ключовим гравцем у регуляції як клітинного імунітету (боротьба з інфекціями та раком), так і імунної толерантності (запобігання аутоімунним захворюванням).

Вперше ІЛ-2 був 1976 році відкритий в супернатанті мітоген-активованих людських Т-клітин як фактор росту Т-клітин. ІЛ-2 виробляється переважно Т-хелперами (CD4+) та, меншою мірою, Т-цитотоксичними клітинами (CD8+) у відповідь на стимуляцію антигеном. Його дія спрямована на імунні клітини, які мають відповідні рецептори. До основних функцій ІЛ-2 відноситься проліферація Т-клітин. ІЛ-2 — це основний фактор росту для Т-лімфоцитів. Після того, як Т-клітина розпізнає антиген, ІЛ-2 стимулює її швидке розмноження (клональну експансію), що дозволяє ефективно боротися з інфекцією. ІЛ-2 впливає на диференціацію Т-клітин у різні субпопуляції, як ефекторні клітини, клітини пам'яті [32]. ІЛ-2 приймає участь у регуляції імунної відповіді. ІЛ-2 необхідний для виживання та функціонування регуляторних Т-клітин (Treg). Ці клітини пригнічують імунну відповідь, допомагаючи запобігти надмірному запаленню та розвитку аутоімунних захворювань. Ця подвійна роль — стимуляція ефекторних клітин та підтримка регуляторних — робить ІЛ-2 центральним регулятором імунітету. ІЛ-2 — це критично важливий цитокін, який координує імунну відповідь організму. Він є потужним стимулятором росту та диференціації Т-клітин, що робить його цінним інструментом в імунотерапії. Попри виклики, пов'язані з його токсичністю, розуміння механізмів дії ІЛ-2 відкриває нові перспективи для розробки більш ефективних та безпечних методів лікування раку та аутоімунних захворювань [15].

Завдяки своїй здатності стимулювати імунну систему, ІЛ-2 знайшов

застосування в клінічній медицині. Наприклад, імунотерапія раку. Рекомбінантний ІЛ-2 (альдеслейкін) використовується для лікування деяких видів раку, зокрема метастатичної нирковоклітинної карциноми та меланоми. Він стимулює протипухлинну імунну відповідь, активуючи Т-клітини та натуральні кілери (NK-клітини), які здатні руйнувати ракові клітини [8].

Рецептори до ІЛ-2 були знайдені в багатьох тканинах, не тільки в імунних клітинах, це може накласти обмеження на його використання в медичній практиці. Використання ІЛ-2 лімітоване через його значні побічні ефекти, зокрема синдром витоку капілярів, що може призвести до набряку, зниження артеріального тиску та пошкодження органів.

ІЛ-2 відіграє вирішальну роль у регуляції запалення, і нейрозапалення зокрема. Пуя Голедж та співавт. продемонстрували, що один із критичних імунних шляхів при хворобі Паркінсона є балансування між прозапальними та протизапальними цитокінами, що у великій мірі залежить від ІЛ-2. Цей баланс є життєво необхідним для виживання нейронів, порушення сигналізації ІЛ-2 призводить до порушення рівноваги між регуляторними Т-клітинами (Treg) та Т-хелперами Th1 та Th2 [6]. Використання рекомбінантного ІЛ-2 на тваринних моделях хвороби Паркінсона продемонструвало посилення ефективності Treg та підвищення якості нейропротекції.

При панкреатиті ІЛ-2 також виступає провідним імунорегулятором, що стимулює розвиток Treg. У свою чергу регуляторні Т-клітини інгібують надлишок імунних реакцій та сприяють вивільненню протизапальних цитокінів, таких як TGF- β , ІЛ-10, ІЛ-35. В інших дослідженнях [27], продемонстрували, що нокаут генів ІЛ-2 або його рецептора у мишей сприяє розвитку системної реакції запалення та ненормальній проліферації лімфоцитів. З іншого боку, надмірна секреція ІЛ-2 може підсилювати запальну реакцію.

Проте, в окремих дослідженнях було продемонстровано, що ІЛ-2 може сприяти прогресуванню онкопатології. Наприклад, клітини пухлини легень використовували сигнальний шлях ІЛ-2 для власної виживаємості та проліферації, посилення метастазування та уникнення імунного нагляду [41, 42].

Дія ІЛ-2 була дозозалежною: у високих концентраціях ІЛ-2 приводив до активації ефекторних шляхів та сприяв розвитку запальних реакцій, у низьких, навпаки, до активації регуляторних Т-клітин та запобіганню розвитку запальних реакцій [33-35].

Порушення сигналізації ІЛ-2 також було показана при розвитку аутоімунних хвороб печінки. сигнальні шляхи ІЛ-2 та ІЛ-12 сприяли безперешкодній запальній реакції в тканинах печінки, втрати імунної толерантності до власних тканин, пошкоджень, що опосередковане Т-клітинами та дефектній відповіді на чужеродні антигени [34].

Ще у 1983 році Bindon et al. продемонстрував виникнення гіпоглікемії при застосування ІЛ-2. В подальшому було встановлено відсутній зв'язок між поглинанням глюкози нейтрофілами та ІЛ-2. Venge показав, що ІЛ-2 не мав впливу на поглинання глюкози і еозинофілами [39]. McCowen et al. (2001) показав, що цитокіни, які регулюють динаміку запальної реакції можуть впливати на рівень глюкози. Гостра фаза запалення асоціюється із гіперглікемією, при подальшому перебігу розвивається гіпоглікемія. Harnish показав зниження рівня сироваткової глюкози у чоловіків із гострим бактеріальним запаленням під впливом ІЛ-2, що, на думку автора дослідження пов'язано із посиленням ІЛ-2 поглинання глюкози імунними клітинами [8].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали та умови проведення дослідів

Органотипові культури для вивчення впливу цитокінів на їхні біохімічні параметри отримували з білих безпородних статевозрілих мишей-самців. При роботі з лабораторними тваринами дотримувалися «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005). Біоетична експертиза дослідження проведена комісією з питань біоетики факультету біології, географії та екології Херсонського державного університету (протокол № 6 від 30 листопада 2022 р.).

Після евтаназії робили забір наступних органів та їх зрізи у ламінарній шафі: головного мозку, печінки та скелетних м'язів. Після органи промивали від крові фізіологічним розчином, вирізали ділянки пошкодженої тканини, сполучну та жирову тканини. Органи нарізали на зрізи товщиною до 1 мм та масою 100 мг. Готові зрізи поміщувалися у живильне середовище DMEM із додаванням 15%-ї телячої сироватки та антибіотиків стрептоміцин і пеніцилін у концентрації 40 мкл/мл. Культивування проводили протягом 14 днів. Біохімічні параметри органотипових культур визначали на 7-ий та 14-ий день інкубації.

Для вивчення впливу цитокінів проводили інкубування із ІЛ-2 (пролейкін, «Clinigen Healthcare», Велика Британія) у концентраціях 5000, 7500 МО/мл, з еритропоетином (епобіокрин, «Біофарма», Україна) у концентраціях 13 (висока), 6,5 (середня) і 1,3 МО/мл (низька) і контрольні культури, тобто без стимуляції.

2.2. Визначення біохімічних показників органотипових культур в умовах стимуляції цитокіновими препаратами

Вивчення рівня поглинання глюкози

Інтенсивність поглинання глюкози органотиповими культурами визначали наступним чином. Перше вимірювання рівня глюкози виконували у

культуральному середовищі до поміщення туди зрізів органів. Він був однаковим для всіх органотипових культур та складала 25 ммоль/л. Далі проводили інкубування органотипових культур протягом 48 годин та визначали повторно рівень глюкози у супернатанті органотипових культур.

Показник інтенсивності поглинання глюкози розраховували за формулою:

$$K_{\text{погл}} = \left(\frac{C_1 - C_2}{100} \right) / 48 K_{\text{погл}} = \left(\frac{C_1 - C_2}{100} \right) / 48,$$

де C_1 – початкова концентрація глюкози, ммоль/л;

C_2 – остаточна концентрація глюкози, ммоль/л;

100 – маса одного зрізу органотипової культури

Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом за допомогою діагностичних тестів (ТОВ «Філісіт-Діагностика», Україна, м.Дніпропетровськ). Глюкозооксидазний метод базується на ферментативній реакції окислення глюкози. Фермент глюкозооксидаза каталізує окислення глюкози до глюконової кислоти та перекису водню (H_2O_2). Утворений перекис водню (H_2O_2) у присутності іншого ферменту – пероксидази – взаємодіє з хромогенним субстратом (наприклад, орто-толідином або 4-аміноантипірином у комбінації з фенолом). Ця реакція призводить до утворення забарвленої сполуки, інтенсивність якої прямо пропорційна концентрації глюкози у зразку. Інтенсивність забарвлення вимірюється фотометрично (спектрофотометром) при певній довжині хвилі, а результат розраховується за калібрувальною кривою або за формулою з використанням калібратора (стандартного розчину глюкози).

Вимірювання оптичної щільності дослідної проби проти холостої. Розрахунок робили за наступною формулою

$$КГ(\text{ммоль/л}) = ОГ(\text{стандарт}) / ОГ(\text{дослідна проба}) \times КГ(\text{стандарт}),$$

Де ОГ (дослідна проба) – оптична густина дослідного зразка.

ОГ (стандарт) – оптична густина стандартного розчину глюкози.

КГ (стандарт) – відома концентрація глюкози в стандартному розчині (зазначена на флаконі або в інструкції до набору).

Вивчення активності піруваткінази органотипових культур

Активність піруваткінази визначали за допомогою діагностичного набору ab83432, «Waltham», США. Піруваткіназа (РК) каталізує перетворення фосфоенолпірувату (PEP) та АДФ на піруват і АТ. Активність РК вимірюється за допомогою ферментативної реакції, де утворений піруват швидко використовується іншим ферментом лактатдегідрогеназою і це призводить до зміни сигналу (оптична густина). Визначення активності піруваткінази проводили у гомогенатах органотипових культур.

Зменшення кількості НАДН (яке поглинає світло при певній довжині хвилі) прямо пропорційне активності піруваткінази, що відображає оптичну густину дослідної проби. Калібрувальний графік для визначення активності піруваткінази будували на основі стандартних розчинів пірувату. Активність піруваткінази гомогенатів органотипових культур визначили за калібрувальним графіком на основі визначеної оптичної густини.

Визначення рівня білка в органотипових культурах в умовах стимуляції цитокінами

Білок визначали в гомогенаті органотипових культур біуретовим методом (Genesis, Ukraine). Метод ґрунтується на утворенні забарвленого комплексу між іонами міді та пептидними зв'язками в лужному середовищі. У лужному середовищі іони Cu^{2+} утворюють фіолетово-синій комплекс із пептидними зв'язками білка. Інтенсивність забарвлення цього комплексу прямо пропорційна кількості пептидних зв'язків у розчині, а отже – концентрації білка. Коефіцієнт екстинції дослідних проб визначають на спектрофотометрі при довжині хвилі 540-560 нм.

Для визначення концентрації білка спочатку будують калібрувальну криву із стандартними розчинами білка. Вимірювання як стандартних проб, так і дослідних проводять проти холостої проби.

Визначення активності амінотрансфераз в органотипових культурах в умовах стимуляції цитокінами

Активність амінотрансфераз (аланінамінотрансферази – АЛТ та аспартатамінотрансферази – АСТ) проводили в супернатанті органотипових культур за методом Рейтмана та Френкеля (Diagnosticum, Hungary). Визначення проводили саме у супернатанті, оскільки ці ферменти мають внутрішньоклітинну локалізацію. Їхня поява у культуральному середовищі буде свідчити про пошкодження та руйнування клітин.

Метод Рейтмана та Френкеля є колориметричним методом для визначення активності АЛТ та АСТ у біологічних зразках. Він ґрунтується на вимірюванні кількості кетокислот, що утворюються в результаті ферментативної реакції.

Оптичну густина стандартної та дослідної проб вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 500-550 нм проти холостої проби. Результати вимірювання оптичної густини стандартних проб використовували для побудови калібрувального розчину.

Методи математичної статистики

Отримані числові дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакетів програм “Microsoft Excel 2010” та “Statistica 9.0”. Достовірність відмінностей між показниками концентрації білка, активності АЛТ та АСТ та інтенсивності поглинання глюкози досліджуваних органотипових культур різних типів та зі стимуляцією та без визначали за допомогою тесту Манна-Уїтні. Достовірність змін показників органотипових культур протягом періоду культивування визначали за допомогою парного тесту Вілкоксона. Рівень достовірності відмінностей складав $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

3.1. Аналіз та обговорення отриманих результатів

Синтетична активність гепатоцитів *in vitro*

Для оцінки синтетичної функції гепатоцитів *in vitro* в умовах стимуляції використовували показник концентрації загального білка (рис. 3.1). Культивування органотипових культур печінки із ІЛ-2 в обох концентраціях не мало вплив на синтетичну активність гепатоцитів – концентрація загального білка органотипових культур із стимуляцією не відрізнялася від контрольних культур.

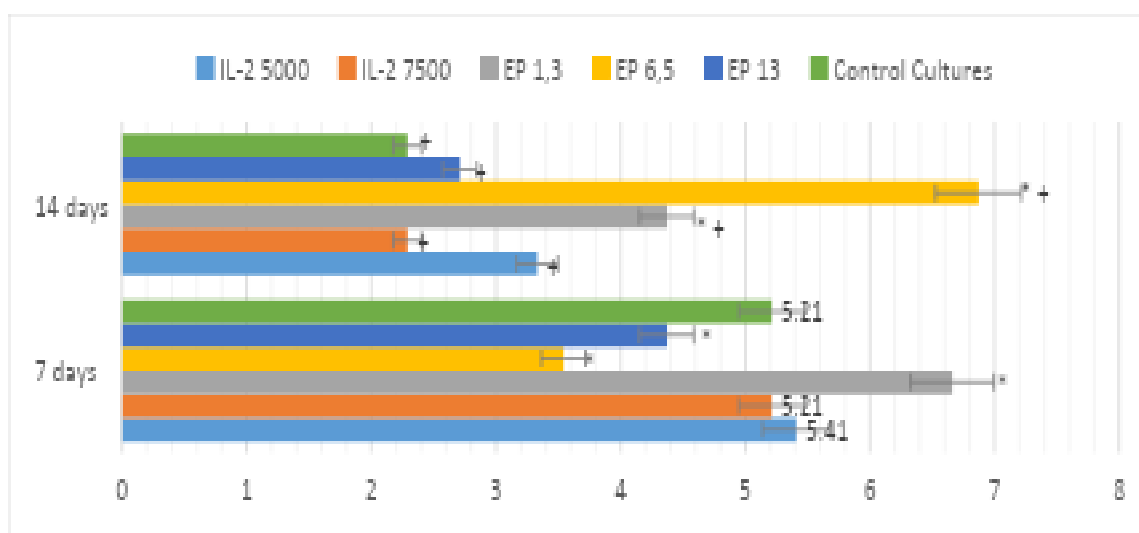


Рис. 3.1 - Концентрація білка в органотипових культур печінки за умов стимуляції ІЛ-2 та еритропоетином (ЕР) (г/л)

Примітка:

* - статистично значуща різниця між показниками різних культур органів печінки протягом одного дня дослідження при $P \leq 0,05$;

+ - статистично значуща різниця між показниками тих самих культур органів у різні дні дослідження при $P \leq 0,05$.

Культивування з еритропоетином у різних концентраціях викликало

дозозалежні зміни у концентрації білка в органотипових культурах печінки ($P \leq 0.05$). Низька концентрація еритропоєтину (1,3 МО/мл) на 7-му добу культивування викликала збільшення концентрації загального білка в органотипових культурах клітин. Стимуляція еритропоєтином у високій (13 МО/мл) та середній (6,5 МО/мл) концентрації призвела, навпаки, до зменшення концентрації білка порівняно з контрольними зразками ($P \leq 0.05$). Еритропоєтин в середній концентрації викликав суттєвіше зменшення загального білка, порівняно в високою концентрацією еритропоєтину.

На 14-й день культивування органотипові культури печінки, що культивувалися із низькою концентрацією еритропоєтину, продемонстрували зниження рівня загального білка порівняно із показниками на 7-ий день культивування, проте, через суттєве зменшення концентрації білка в контрольних культурах, ці показники виявилися вищими порівняно із контрольними зразками ($P \leq 0.05$). Рівень білка органотипових культур печінки, що культивувалися з високою концентрацією еритропоєтину, на 14-ий день зазнав зниження та не відрізнялися від аналогічних показників контрольних культур

Активність АЛТ та АСТ органотипових культур печінки в умовах стимуляції цитокінами

Активність АЛТ зростала в органотипових культурах печінки при стимуляції ІЛ-2 у концентрації 7500 МО/мл порівняно із показниками контрольних культур (рис. 3.2). В концентрації 5000 МО/мл ІЛ-2 не впливав на активність АЛТ органотипових культур печінки ($P \leq 0.05$). На 14-ий день культивування активність АЛТ не відрізнялася в органотипових культурах зі стимуляцією ІЛ-2 та без.

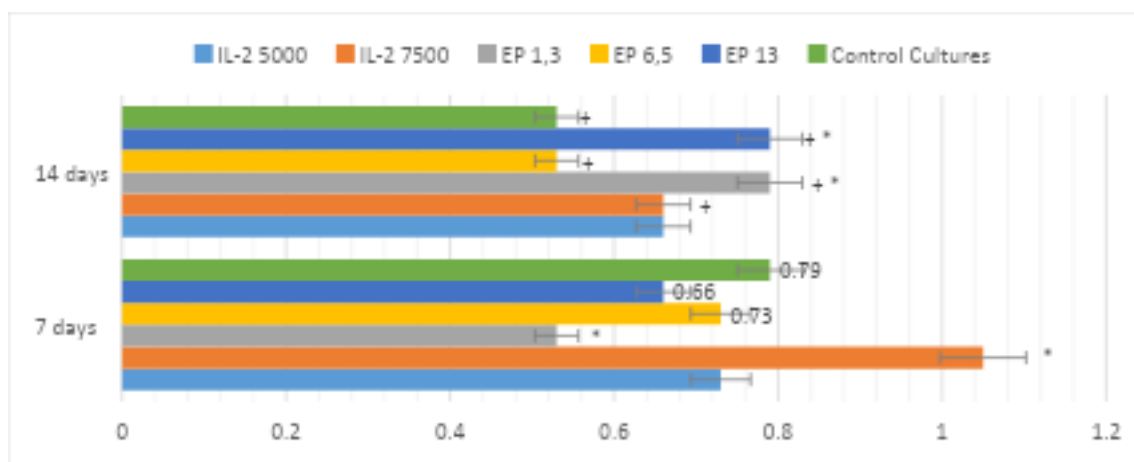


Рис. 3.2 - Активність аланін-амінотрансферази (АЛТ) супернатанту культур органів печінки за умов стимуляції ІЛ-2 та еритропоєтином (ЕП) (мкмоль/(год*мл))

Примітка:

* - статистично значуща різниця між показниками різних культур органів печінки протягом одного дня дослідження при $P \leq 0,05$;

+ - статистично значуща різниця між показниками тих самих культур органів у різні дні дослідження при $P \leq 0,05$.

Показники активності АСТ контрольних органотипових культур печінки залишилися незмінною протягом періоду культивування. Активність АСТ органотипових культур печінки під впливом ІЛ-2 в обох на 7-ий (рис. 3.3) день культивування концентраціях була суттєво нижчою за аналогічні показники контрольних культур ($P \leq 0.05$). На 14-ий день культивування вплив ІЛ-2 на активність АСТ органотипових культур печінки був дозозалежний. У концентрації 5000 МО/мл ІЛ-2 викликав збільшення активності АСТ порівняно із аналогічними показниками органотипових культур печінки на 7-ий день культивування ($P \leq 0.05$) та активністю АСТ контрольних органотипових культур печінки на 14-ий день культивування.

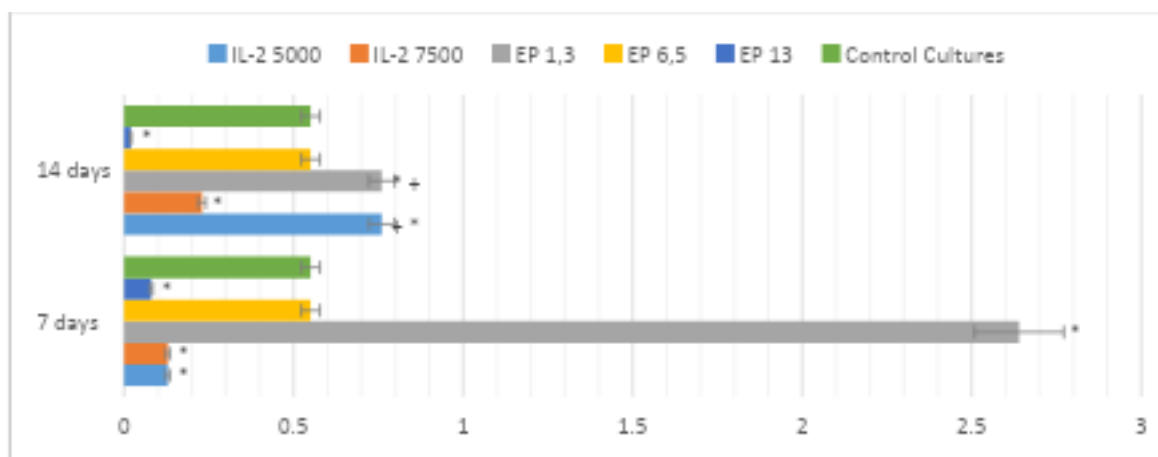


Рис. 3.3 - Активність аспартатамінотрансферази (АСТ) супернатанту культур органів печінки за умов стимуляції ІЛ-2 та еритропоєтином (ЕП) (мкмоль/(год*мл))

Примітка:

* - статистично значуща різниця між показниками різних культур органів печінки протягом одного дня дослідження при $P \leq 0,05$;

+ - статистично значуща різниця між показниками тих самих культур органів у різні дні дослідження при $P \leq 0,05$.

При стимуляції ІЛ-2 у концентрації 7500 МО/мл на 14-й день культивування активність АСТ органотипових культур печінки збільшилася порівняно із аналогічними показниками органотипових культур печінки, стимульованих ІЛ-2 у тій самій концентрації на 7-й день культивування. Проте, порівнюючи активність АСТ органотипових культур печінки на 14-ий день культивування із аналогічними показниками контрольних культур встановлено зниження активності АСТ.

Обчислення співвідношення активності ферментів АСТ та АЛТ органотипових культур печінки в умовах стимуляції ІЛ-2 в обох концентраціях демонструє відносне збільшення активності АЛТ в поєднанні зі зменшенням активності АСТ на 7-ий день культивування. Продовження стимуляцію ІЛ-2 до 14 днів виявило дозозалежну зміну співвідношення активності ферментів АСТ

та АЛТ. В органотипових культурах печінки, що культивувалися із ІІ-2 в концентрації 5000 МО/мл співвідношення АСТ/АЛТ складало близько 1. В органотипових культурах печінки, що культивувалися з ІІ-2 у концентрації 7500 МО/мл переважала активність АЛТ.

Активність АЛТ органотипових культур печінки, що культивувалися з еритропоетином у концентрації 6,5 МО/мл на 7-ий та 14-ий день культивування не відрізнялася від аналогічних показників контрольних зразків. В низькій (1,3 МО/мл) та високій (13 МО/мл) концентраціях еритропоетин викликав зменшення активності АЛТ в порівнянні із контрольними зразками на 7-ий день експерименту, а на 14-ий - збільшення активності ($P \leq 0.05$).

Вплив еритропоетину на активність АСТ органотипових культур печінки був дозозалежний. Стимуляція еритропоетином у низькій концентрації призводила до підвищення активності АСТ протягом всього терміну культивування ($P \leq 0.05$). Дія еритропоетину у середній концентрації (6,5 МО/мл) не позначалася на активності АСТ органотипових культур печінки. У високій концентрації еритропоетин знизив активність АСТ органотипових культур печінки.

Коефіцієнт амінотрансфераз під впливом еритропоетину змінювався дозозалежно. У середній концентрації співвідношення амінотрансфераз не відрізнялося від такого у контрольних зразках і дорівнювало близько 1 протягом усього періоду культивування. У низькій концентрації (1,3 МО/мл) еритропоетин викликав зміну співвідношення амінотрансфераз у бік АСТ на 7-ий день культивування. На 14-ий день культивування такого ефекту не спостерігалось. При культивуванні з еритропоетином у високій концентрації (13 МО/мл) спостерігалось зміна співвідношення амінотрансфераз у бік АЛТ.

Вивчення інтенсивності поглинання глюкози органотиповими культурами

Для вивчення впливу цитокінів на інтенсивність поглинання глюкози ми інкубували органотипові культури головного мозку, скелетних м'язів та печінки

з ІЛ-2 та еритропоетином. Ми з'ясували (рис. 3.4), що найнижчою інтенсивність поглинання глюкози без дії цитокінів спостерігалось у органотипових культурах печінки, найбільшою – в органотипових культурах скелетних м'язів (рис. 3.4).

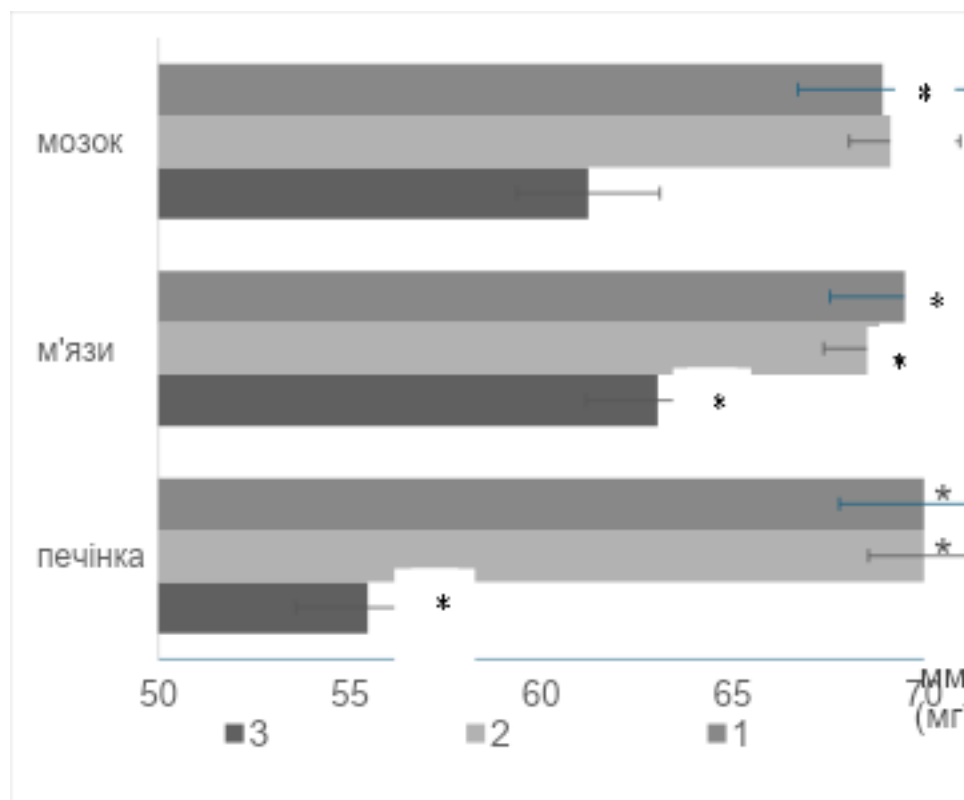


Рис. 3.4 – Зміна інтенсивності поглинання глюкози при стимуляції ІЛ-2 (1 – ІЛ-2 5000, 2 – ІЛ-2 7500 МО/мл, 3 – контроль;

* – різниця між показниками зразків зі стимуляцією ІЛ-2 та контролем ($P \leq 0,05$);

** – різниця між показниками контрольних зразків органотипових культур при порівнянні між собою ($P \leq 0,05$)).

Еритропоетин (рис. 3.5) в усіх концентраціях викликав інтенсифікацію поглинання глюкози органотиповими скелетних м'язів порівняно з аналогічними показниками контрольних культур ($P \leq 0,05$). Інтенсивність поглинання глюкози органотиповими культурами головного мозку практично не зазнала змін під

впливом еритропоєтину. Органотиві культури печінки продемонстрували збільшення інтенсивності поглинання глюкози у відповідь на стимуляцію еритропоєтином, проте різниця показника не сягала статистичної при порівнянні із контрольними культурами

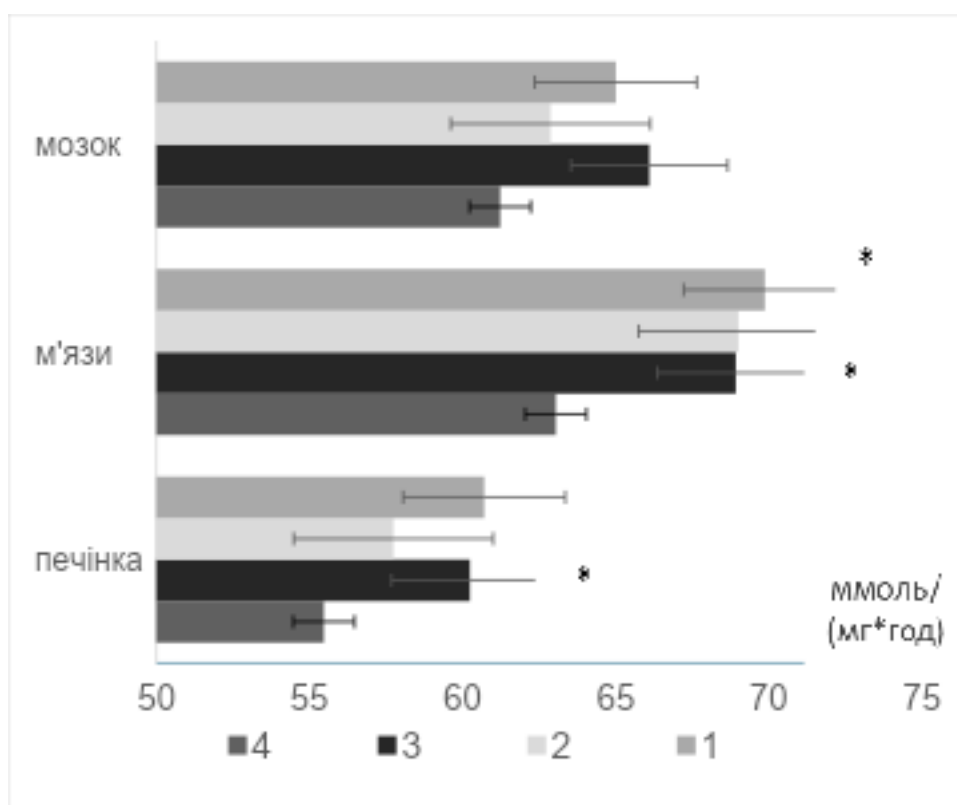


Рис. 3.5 – Зміна інтенсивності поглинання глюкози при стимуляції еритропоєтином (1 – еритропоєтин 13, 2 – еритропоєтин 6,5, 3 – еритропоєтин 1,3 МО/мл, 4 – контроль;

* – різниця між показниками зразків зі стимуляцією еритропоєтином та контролем ($P \leq 0,05$);

** – різниця між показниками контрольних зразків органотипових культур при порівнянні між собою ($P \leq 0,05$).

Інкубування з ІЛ-2 в обох концентраціях суттєво збільшувало інтенсивність поглинання глюкози органотиповими культурами печінки, головного мозку та скелетними м'язами ($P \leq 0,05$).

3.2. Обговорення отриманих результатів

Нами було проведено дослідження біохімічних показників органотипових культур в умовах стимуляції такими цитокінами, як еритропоетин та ІЛ-2. Встановлено, що ІЛ-2 не впливав на рівень загального білка в органотипових культурах печінки. Рівень загального білка відображає синтетичну активність клітин, зокрема гепатоцитів. Отримані результати визначення рівня загального білка під впливом ІЛ-2 свідчать про те, що він не має вплив на синтетичну активність гепатоцитів. Стимуляція еритропоетином мала дозозалежний вплив на синтетичну активність гепатоцитів. У низьких концентраціях еритропоетин підвищував синтетичну активність гепатоцитів, у середніх та високих - пригнічував синтетичну активність гепатоцитів.

Амінотрансферази – це ферменти, що каталізують переніс аміногруп між амінокислотами. До амінотрансфераз відносяться АЛТ та АСТ. Активність амінотрансфераз є маркером руйнування клітин печінки. Визначення рівня активності АЛТ, АСТ та коефіцієнта їхнього співвідношення відображає ступінь руйнування тканини та характер пошкодження. АЛТ є переважно цитоплазматичним ферментом та відображає цілісність цитоплазматичної мембрани, що може свідчити про цитотоксичну дію, але не мітохондріальної природи. АСТ є переважно мітохондріальним ферментом та його поява у міжклітинній рідині свідчить про ушкодження мітохондріальної мембрани, що свідчить саме токсичну дію на мітохондрії дію речовини.

Нами було встановлено, що ІЛ-2 у високих концентрації на 7-ий день призводив до збільшення активності АЛТ, в обох концентраціях ІЛ-2 призводив до зменшення активності АСТ на 7-ий день культивування. На 14-ий день ІЛ-2 у малій концентрації призводив до збільшення активності АСТ. Еритропоетин у середній концентрації не мав впливу на активність АЛТ та АСТ. У низькій концентрації призводив до зниження активності АЛТ та підвищення активності АСТ. У високій концентрації еритропоетин призводив до зниження активності АЛТ та АСТ.

Отримані результати вивчення активності амінотрансфераз органотипових культур печінки свідчать про те, що еритропоетин у високій концентрації має цитопротекторний вплив на цитоплазматичну мембрану гепатоцитів та збереження її цілісності. Еритропоетин у середній концентрації не виявляв ані цитотоксичної, ані цитопротекторної дії. У низькій концентрації еритропоетин викликав збільшення активності мітохондріальних ферментів на 7-ий день культивування та зменшення активності цитоплазматичних ферментів. Це може свідчити про те, що еритропоетин має як гепатотоксичну дію та викликав загибель клітин, так і про те, що еритропоетин призводить до інтенсифікації процесів трансамінування та попередження жирової дистрофії печінки. ІЛ-2 в високих концентрація виявляв слабку дію на цілісність плазмолем, проте не виявляв мітотоксичної дії, а навпаки сприяв збереженню цілісності мітохондріальних мембран на 7-ий день культивування.

Підтримка сталого енергетичного стану клітини є необхідною умовою її існування. Задіяння захисних механізмів клітини, що включаються під час гіпоксії сприяють виживанню клітин, мають антиапоптичну дію. Глюкоза є основним джерелом енергії в клітинах ссавців. У звичайних умовах клітини метаболізують глюкозу та амінокислоти у відповідь на зовнішні та внутрішні чинники. До зовнішніх відносяться різноманітні метаболічні гормони, зокрема інсулін, глюкагон, IGF (інсуліноподібний гормон росту), епідермальний фактор росту, надлишок або дефіцит поживних речовин. До внутрішніх сигналів можна віднести енергетичний стан клітини, умови росту, наявність стресуючих факторів [20, 21]. У випадку зміни умов контролю росту клітини (наприклад, онкогенна трансформація, ріст в культурі клітин) змінюється координований контроль енергетичного обміну [20, 21]. Численними дослідженнями було показано, що блокування поглинання глюкози викликало апоптоз у клітинах [39].

Інтенсивність поглинання глюкози відіграє ключову роль у виживаємості клітини, а саме розвитку апоптозу. Зниження транспорту глюкози було пов'язано з першими етапами запрограмованої клітинної смерті (апоптозом). Транспорт та

метаболізм глюкози виступають важливими регуляторними ланками в розвитку раннього апоптозу. Різні цитокіни та фактори росту можуть використовувати шляхи регуляції інтенсивності транспорту глюкози для запуску чи пригнічення апоптозу. В науковій літературі представлено достатньо доказів того, що глюкоза є ключовим фактором у підтримці балансу між життям та смертю клітини. Зниження транспорту глюкози призводить до виснаження АТФ, що запускає мітохондріальний каскад клітинної смерті, викликає окислювальний стрес, в результаті чого клітина гине. Глюкоза транспортується в клітина за допомогою глюкозних транспортерів – GLUT [17]. Існує кілька видів глюкозних транспортерів, що мають тканинносцифічність. Глюкозний транспортер GLUT1 наявний в усіх тканинах ссавців [20]. Окрім нього, в різних тканинах наявні додаткові – GLUT2 знаходиться в клітинах печінки та β -клітинах острівців Лангерганса підшлункової залози; GLUT3 наявний у нейронах; GLUT4 знаходиться в м'язовій та жировій тканинах [17, 22].

Глюкозний транспортер GLUT1 є інсулінонезалежним та його кількість в плазмолемі залежить від рівня глюкози. GLUT2 може працювати в обидва боки плазмолемі – як транспортувати глюкозу в середину клітини, так і в позаклітинне середовище. GLUT3 має високу спорідненість із глюкозою та є інсулінонезалежним глюкозним транспортером. GLUT4 є інсулінозалежним глюкозним транспортером та забезпечує основне поглинання глюкози із міжклітинного простору м'язовою та жировою тканиною [20, 21].

Pan Y. [23] проводили дослідження впливу еритропоєтину на метаболізм глюкози мишей, хворих на цукровий діабет II типу та продемонстрували покращення профілів глюкози у відповідь на стимуляцію еритропоєтином. Блокування рецептора еритропоєтину (EPOR) на плазматичній мембрані скелетних волокон призводило до скасування покращення профілів глюкози та викликало апоптоз зазначених клітин. Також, у дослідженні було показано транслокацію глюкозних транспортерів GLUT4 у плазматичну мембрану. При цьому миші, стимульовані лише інсуліном продемонстрували менші показники поглинання глюкози порівняно з аналогічними показниками тварин

стимульованих інсуліном та еритропоетином. Не Н. [10] показали, що еритропоетин не має вплив на глюкозний транспортер GLUT2. Більш ранні дослідження показують досить суперечливі дані щодо впливу еритропоетину на рівень глюкози. Наприклад, Rigalleau та інші [3] відмітили погіршення глікемічного статусу пацієнтів, що проходили лікування анемії еритропоетином. Allegra та інші [18], навпаки, продемонстрували збільшення інтенсивності утилізації глюкози після терапій еритропоетином. Дослідженням [19] було показано гіпоглікемічний ефект еритропоетину *in vivo* у хворих на цукровий діабет II типу: покращення утилізації глюкози при тривалому впливі еритропоетину за рахунок зниження резистентності до інсуліну. В експерименті на щурах із STZ-індукованим цукровим діабетом було продемонстровано різкий цукрознижувальний ефект не тільки у тварин з діабетом, але й у здорових тварин під впливом еритропоетину [18]. Cayla та інші [2] показали зміни у поглинальній здатності глюкози скелетними м'язами у тренуваних щурів та щурів з гіподинамією під впливом еритропоетину.

Вперше помітили виникнення гіпоглікемії на фоні застосування IL-2 Bindon та інші у 1983 році [1]. Harnish та інші [7] продемонстрували цукрознижувальний ефект IL-2 у чоловіків з бактеріальним запаленням. Дослідники спиралися на загальновідомий факт, що гостра фаза запалення супроводжується гіперглікемією, а подальший розвиток інфекційного процесу супроводжується гіпоглікемією. В гострій фазі виділяється цитокін IL-6, тоді, як на подальших стадіях запалення виділяється IL-2. Авторами досліджень проводилось введення зазначених цитокінів та показано нетривале зменшення глюкози під впливом IL-2. Досліджуючи процес транспорту глюкози у лімфоцитах периферичної крові, науковці [6, 8] продемонстрували підсилення експресії GLUT1 під впливом IL-2, проте не GLUT3. Досліджуючи [4] процес транспорту глюкози у лімфоцитах периферичної крові продемонстрували підсилення експресії GLUT1 під впливом IL-2, проте не GLUT3.

В умовах стимуляції IL-2 органотипові культури збільшували інтенсивність поглинання глюкози була незалежно від виду культури.

Еритропоетин збільшував інтенсивність поглинання глюкози лише органотиповими культурами скелетних м'язів. Оскільки, під впливом ІЛ-2 збільшилася інтенсивність поглинання глюкози в усіх органотипових культурах, ми припускаємо, що ІЛ-2 має вплив на GLUT1, який експресується в усіх тканинах. Наше припущення підтверджується дослідженням [6] інтенсивності поглинання глюкози лімфоцитами периферичної крові.

Еритропоетин викликав збільшення інтенсивності поглинання глюкози в органотипових культурах скелетних м'язів. В м'язовій тканині поглинання глюкози забезпечується GLUT4. Ми припускаємо, що еритропоетин призводить до збільшення представленості в на плазматичній мембрані глюкозного транспортера GLUT4. Це підтверджується дослідженням [22], в якому продемонстрували вплив еритропоетину на толерантність до глюкозу шляхом транслокації GLUT4 з цитоплазми у плазмолему.

ВИСНОВКИ

1. Культивування органотипових культур печінки із ІЛ-2 не мало вплив на синтетичну активність гепатоцитів, збільшувало активність АЛТ, проте сприяло збереженню цілісності мітохондріальних мембран.
2. Еритропоетин у середній концентрації не мав ані цитопротекторного ефекту, ані цитотоксичного. У високій концентрації спостерігалася пригнічення синтетичної активності гепатоцитів, проте еритропоетин в високій концентрації виявляв цитопротекторну дію. При низьких концентрація також еритропоетин збільшував синтетичну активність, але і підвищував активність мітохондріальних амінотрансфераз. Це може вказувати як на цитотоксичну дію, так і на інтенсифікацію процесів трансамінування.
3. ІЛ-2 викликав збільшення інтенсивності поглинання глюкози в усіх органотипових культурах порівняно із контрольними зразками. Еритропоетин викликав збільшення інтенсивності поглинання глюкози лише в органотипових культурах скелетних м'язів. Це свідчить про те, що цитокіни мають вплив на глюкозні транспортери та інтенсивність поглинання глюкози як базового механізму життєдіяльності клітини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

REFERENCES

1. Bindon C, Czerniecki M, Ruell P, Edwards A, McCarthy WH, Harris R, Hersey P. Clearance rates and systemic effects of intravenously administered interleukin 2 (IL-2) containing preparations in human subjects. *British journal of cancer*. 1983;47(1):123-33. doi: [10.1038/bjc.1983.15](https://doi.org/10.1038/bjc.1983.15).
2. Cao T, Warren CR. From 2D Myotube Cultures to 3D Engineered Skeletal Muscle Constructs: A Comprehensive Review of In Vitro Skeletal Muscle Models and Disease Modeling Applications. *Cells*. 2025 Jun 11;14(12):882. doi: [10.3390/cells14120882](https://doi.org/10.3390/cells14120882). PMID: 40558510; PMCID: PMC12191219.
3. Cayla J, Lavoie C, Gareau R, Duvallet A. Effects of recombinant erythropoietin (r-HuEPO) on plasma glucose concentration in endurance-trained rats. *Acta physiologica Scandinavica*. 1999;166(3):247-9. doi: [10.1046/j.1365-201x.1999.00565.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.1999.00565.x).
4. Chakrabarti R, Jung CY, Lee TP, Liu H, Mookerjee BK. Changes in glucose transport and transporter isoforms during the activation of human peripheral blood lymphocytes by phytohemagglutinin. *J Immunol*. 1994 Mar 15;152(6):2660-8. PMID: 8144874
5. Eckle VS, Balk M, Thiermann H, Antkowiak B, Grasshoff C. Botulinum toxin B increases intrinsic muscle activity in organotypic spinal cord-skeletal muscle co-cultures. *Toxicol Lett*. 2016 Feb 26;244:167-171. doi: [10.1016/j.toxlet.2015.08.003](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.08.003). Epub 2015 Aug 7. PMID: 26260118.
6. Goleij P, Amini A, Tabari MAK, Hadipour M, Sanaye PM, Alsharif KF, Daglia M, Larsen DS, Khan H. The role of interleukin (IL)-2 cytokine family in Parkinson's disease. *Cytokine*. 2025 Jul;191:156954. doi: [10.1016/j.cyto.2025.156954](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2025.156954). Epub 2025 May 2. PMID: 40318236.
7. Harnish MJ, Lange T, Dimitrov S, Born J, Fehm HL. Differential regulation of human blood glucose level by interleukin-2 and -6. *Experimental and clinical*

- endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association. 2005;113(1):43-8. doi: 10.1055/s-2004-830526
8. Harnish MJ, Lange T, Dimitrov S, Born J, Fehm HL. Differential regulation of human blood glucose level by interleukin-2 and -6. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2005;113(1):43-8. doi: 10.1055/s-2004-830526
 9. Hayden PJ, Harbell JW. Special review series on 3D organotypic culture models: Introduction and historical perspective. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2021 Feb;57(2):95-103. doi: 10.1007/s11626-020-00500-2. Epub 2020 Nov 25. PMID: 33237402; PMCID: PMC7687207.
 10. He H, Wu T, Xiong J, Chen K, Mo Z. Effect of erythropoietin on the proliferation and apoptosis of neonatal porcine islet cells. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2010 Nov;35(11):1115-22. PMID: 21131731; doi: 10.3969/j.issn.1672-7347.2010.11.001
 11. Hondowicz, B. D. et al. Interleukin-2-dependent allergen-specific tissue-resident memory cells drive asthma. *Immunity* 44, 155–166 (2016).
 12. Hughes DL, Hughes A, Soonawalla Z, Mukherjee S, O'Neill E. Dynamic Physiological Culture of Ex Vivo Human Tissue: A Systematic Review. *Cancers (Basel)*. 2021 Jun 8;13(12):2870. doi: 10.3390/cancers13122870. PMID: 34201273; PMCID: PMC8229413.
 13. I Gede Putu Supadmanaba, Annalisa Comandatore, Luca Morelli, Elisa Giovannetti & Tonny Lagerweij (2021) Organotypic-liver slide culture systems to explore the role of extracellular vesicles in pancreatic cancer metastatic behavior and guide new therapeutic approaches, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 17:8, 937-946, DOI: 10.1080/17425255.2021.1925646
 14. LeCluyse EL, Witek RP, Andersen ME, Powers MJ. Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing. *Crit Rev Toxicol*. 2012 Jul;42(6):501-48. doi: 10.3109/10408444.2012.682115. Epub 2012 May 15. PMID: 22582993; PMCID: PMC3423873.

15. Liao, W., Lin, J. X. & Leonard, W. J. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. *Immunity* 38, 13–25 (2013).
16. Maksymenko O, Shkuropat A, Hasiuk O. Biological effect of erythropoietine in different concentrations on the cell culture. *Ukrayinskyi zhurnal medytsyny, biologiyi ta sportu*. 2017; 4(6): 185-8. [In Ukrainian].
17. Michelle Furtado L, Poon V, Klip A. GLUT4 activation: thoughts on possible mechanisms. *Acta Physiol Scand*. 2003 Aug;178(4):287-96. PMID: 12864733; doi: 10.1046/j.1365-201X.2003.01160.x.
18. Michiels C, Minet E, Michel G, Mottet D, Piret JP, Raes M. HIF-1 and AP-1 cooperate to increase gene expression in hypoxia: role of MAP kinases. *IUBMB Life*. 2001 Jul;52(1-2):49-53. PMID: 11795593; doi: 10.1080/15216540252774766.
19. Mikolás E, Cseh J, Pap M, Szijárto IA, Balogh A, Laczy B, Bekő V, Fisi V, Molnár GA, Mérei A, Szeberényi J, Wittmann I. Effects of erythropoietin on glucose metabolism. *Hormone and metabolic research*. 2012;44(4):279-85. doi: [10.1055/s-0032-1301901](https://doi.org/10.1055/s-0032-1301901).
20. Mulukutla BC, Khan S, Lange A, Hu WS. Glucose metabolism in mammalian cell culture: new insights for tweaking vintage pathways. *Trends Biotechnol*. 2010 Sep;28(9):476-84. PMID: 20691487; doi: 10.1016/j.tibtech.2010.06.005.
21. Mulukutla BC, Yongky A, Le T, Mashek DG, Hu W.-S. Regulation of glucose metabolism – a perspective from cell bioprocessing. *Trends in Biotechnology*. 2016;34(8):638-51. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.04.012.
22. Pan Y, Yang XH, Guo LL, Gu YH, Qiao QY, Jin HM. Erythropoietin reduces insulin resistance via regulation of its receptor-mediated signaling pathways in db/db mice skeletal muscle. *Int J Biol Sci*. 2017 Oct 17;13(10):1329-40. PMID: 29104499; PMCID: PMC5666531; doi: 10.7150/ijbs.19752.
23. Pan Y, Yang XH, Guo LL, Gu YH, Qiao QY, Jin HM. Erythropoietin reduces insulin resistance via regulation of its receptor-mediated signaling pathways in db/db mice skeletal muscle. *Int J Biol Sci*. 2017 Oct 17;13(10):1329- 40. PMID: 29104499; PMCID: PMC5666531; doi: 10.7150/ijbs.19752.

24. Partiot E, Gorda B, Lutz W, Lebrun S, Khalfi P, Mora S, Charlot B, Majzoub K, Desagher S, Ganesh G, Colomb S, Gaudin R. Organotypic culture of human brain explants as a preclinical model for AI-driven antiviral studies. *EMBO Mol Med*. 2024 Apr;16(4):1004-1026. doi: 10.1038/s44321-024-00039-9. Epub 2024 Mar 12. PMID: 38472366; PMCID: PMC11018746.
25. Patel NS, Nandra KK, Thiemermann C. Bench-to-bedside review: Erythropoietin and its derivatives as therapies in critical care. *Critical Care*. 2012;16(4):229. doi: 10.1186/cc11315.
26. Peng B, Kong G, Yang C, Ming Y. Erythropoietin and its derivatives: from tissue protection to immune regulation. *Cell Death Disease*. 2020;11(2). doi: 10.1038/s41419-020-2276-8.
27. Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell*. (1993) 75:253–61. doi: 10.1016/0092-8674(93)80067-O
28. Shkuropat AV, Shvets VA, Golovchenko IV, Prosiannikova YaM. Influence of biologically active substances on synthesis function and cellular destruction of hepatocytes in vitro. *Fiziol. Zh*. 2022;68(5):60-6. doi: 10.15407/fz68.05.060.
29. Shkuropat, A.V., Shvets, V.A., Golovchenko, I.V., Hasiuk, O.M. Cytokine-induced changes in glucose uptake and pyruvate kinase activity in organotypic cultures. *Fiziol. Zh*. 2025; 71(4):28-22. <https://doi.org/10.15407/fz71.04.022>
30. Shvets V, Shkuropat A, Prosiannikova Y, Golovchenko I. Effect of Interleukin-2 on the humoral link of immunity during physical activity. *Journal of Physical Education & Sport*. 2020;20(Supplement issue 6):3153-9.
31. Shvets VA, Shkuropat AV. Effect of interleukin-2 on antioxidant system and lipid peroxidation during physical activity. *Cherkasy University Bulletin: Biological Sciences Series*. 2020; 2: 107-15. [In Ukrainian].
32. Spolski R, Li P, Leonard WJ. Biology and regulation of IL-2: from molecular mechanisms to human therapy. *Nat Rev Immunol*. 2018 Oct;18(10):648-659. doi: 10.1038/s41577-018-0046-y. PMID: 30089912.
33. Tang Z, Sun X, Huo G, Xie Y, Shi Q, Chen S, Wang X, Liao Z. Protective effects

- of erythropoietin on astrocytic swelling after oxygen-glucose deprivation and reoxygenation: mediation through AQP4 expression and MAPK pathway. *Neuropharmacology*. 2013 Apr;67:8-15. PMID: 23142737; doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.10.017
34. Tang, Q., Adams, J. Y., Penaranda, C., Melli, K., Piaggio, E., Sgouroudis, E., et al. (2008). Central role of defective interleukin-2 production in the triggering of islet autoimmune destruction. *Immunity*, 28(5), 687-697. DOI: 10.1016/j.immuni.2008.03.016
35. Tang, Z. et al. CTCF-mediated human 3D genome architecture reveals chromatin topology for transcription. *Cell* 163, 1611–1627 (2015).
36. Truskey GA. Development and application of human skeletal muscle microphysiological systems. *Lab Chip*. 2018 Oct 9;18(20):3061-3073. doi: 10.1039/c8lc00553b. PMID: 30183050; PMCID: PMC6177290.
37. Tsai S, McOlash L, Palen K, Johnson B, Duris C, Yang Q, Dwinell MB, Hunt B, Evans DB, Gershan J, James MA. Development of primary human pancreatic cancer organoids, matched stromal and immune cells and 3D tumor microenvironment models. *BMC Cancer*. 2018 Mar 27;18(1):335. doi: 10.1186/s12885-018-4238-4. PMID: 29587663; PMCID: PMC5870823.
38. Vega JMH, Hong HJ, Loutharback K, Stybayeva G, Revzin A. A Microfluidic Device for Long-Term Maintenance of Organotypic Liver Cultures. *Adv Mater Technol*. 2023 Jan 24;8(2):2201121. doi: 10.1002/admt.202201121. Epub 2022 Oct 3. PMID: 36818276; PMCID: PMC9937715.
39. Venge P, Moberg L, Björnsson E, Bergström M, Långström B, Håkansson L. Mechanisms of basal and cytokine-induced uptake of glucose in normal human eosinophils: relation to apoptosis. *Respiratory medicine*. 2003 Oct;97(10):1109-19. PMID: 14561018; doi: 10.1016/s0954-6111(03)00143-4.
40. Verrill C, Davies J, Millward-Sadler H, Sundstrom L, Sheron N. Organotypic liver culture in a fluid-air interface using slices of neonatal rat and adult human tissue--a model of fibrosis in vitro. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2002 Sep-Oct;48(2):103-10. doi: 10.1016/S1056-8719(03)00042-X. PMID: 14565567.

41. Wang T, Wang J, Xu H, Yan H, Liu Y, Zhang N, et al. Salvianolic acid B alleviates autoimmunity in Treg-deficient mice via inhibiting IL2-STAT5 signaling. *Phytother Res.* (2024) 38:3825–36. doi: 10.1002/ptr.v38.7
42. Wang, X., Lupardus, P., Laporte, S. L. & Garcia, K. C. Structural biology of shared cytokine receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 27, 29–60 (2009)
43. Zhu Y, Lu Z, Wang Z, Liu J, Ning K. Based on the immune system: the role of the IL-2 family in pancreatic disease. *Front Immunol.* 2025 Jan 31;16:1480496. doi: 10.3389/fimmu.2025.1480496. PMID: 39958351; PMCID: PMC11825815.

Список публікацій виконавців НДР за тематикою досліджень

1. Шкуропат В. Лабораторна біологічна практика : методичні рекомендації для студентів спеціальності 091 Біологія, 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) першого (бакалаврського) рівня вищої освіти / А. Шкуропат, І. Головченко, В. Швець. – Херсон: ФОП Вишемирський В. С., 2020. 34 с. ISBN 978-617-7941-09-4 (електронне видання).
2. Shkuropat AV, Shvets VA, Golovchenko IV, Prosiannikova YaM. Influence of biologically active substances on synthesis function and cellular destruction of hepatocytes in vitro. Fiziol. Zh. 2022; 68(5):60-6. doi: 10.15407/fz68.05.060
3. Shkuropat, A.V., Shvets, V.A., Golovchenko, I.V., Hasiuk, O.M. Cytokine-induced changes in glucose uptake and pyruvate kinase activity in organotypic cultures. Fiziol. Zh. 2025; 71(4):28-22. <https://doi.org/10.15407/fz71.04.022>
4. Швець, В. А. Вплив інтерлейкіну-2 на антиоксидантну систему та перекисне окиснення ліпідів в умовах фізичних тренувань / В. А. Швець, А. В. Шкуропат // Вісник Черкаського університету. Серія біологічні науки. – Черкаси, 2020. № 2. С. 107-115. <https://bio-ejournal.cdu.edu.ua/article/view/4076/4323> DOI: 10.31651/2076-5835-2018-1-2020-2-107-115