

УДК 57.086.13: [61:57.086.13]"364"

А.М. Гольцев*, М.О. Бондарович, Н.О. Волкова,
О.Д. Луценко, Ю.О. Гаєвська, Н.М. Бабенко, О.В. Челомбитько,
М.В. Останков, Д.Б. Введенський, Г.Г. Кісельова, Т.Г. Дубрава

Зростання ролі кріобіологічних і кріомедичних технологій в умовах воєнного стану

UDC 57.086.13: [61:57.086.13]"364"

A.M. Goltsev*, M.O. Bondarovich, N.O. Volkova,
O.D. Lutsenko, Yu.O. Gaevska, N.M. Babenko, O.V. Chelombytko,
M.V. Ostankov, D.B. Vvedenskyi, H.G. Kisielova, T.G. Dubrava

Cryobiology and Cryomedicine Techniques' Boosting in Wartime

Реферат: В огляді проаналізовано дані літератури про суттєвий негативний вплив психоемоційного навантаження, яке супроводжує як військових, так і цивільних будь-якої держави в умовах воєнного стану. Таке навантаження може призводити до важких розладів систем, що забезпечують гомеостатичну сталість організму людини, зокрема до посттравматичного стресового розладу. Перебування організму людини в такому стані супроводжується розвитком важких онкологічних та аутоімунних захворювань, а також дисфункцією репродуктивної системи чоловіків. У роботі запропоновано сучасні підходи до лікування перелічених патологій, більшість з яких базуються на міжнародному досвіді клінічних і експериментальних досліджень та досягненнях вітчизняної академічної науки. Особлива увага приділяється розробці кріобіологічних і кріомедичних клітинно-тканинних технологій, використання яких може бути запорукою зміцнення як психічного, так і фізичного здоров'я цивільного населення під час війни.

Ключові слова: посттравматичний стресовий розлад, онкопатологія, аутоімунні захворювання, дисфункція репродуктивної системи, клітинна терапія, кріоконсервування, дендритні клітини, сперматогональні клітини.

Abstract: The review surveys the published data on a strong negative impact of psycho-emotional stress, which accompanies both the military servicemen and civilians of any state in martial law period. Such a load can lead to severe disorders of the systems that ensure the human body homeostatic stability, in particular to post-traumatic stress disorder. In this case human body is subjected to a state accompanied by the development of severe oncology and autoimmune diseases, as well as dysfunction of the male reproductive system. The study offers modern approaches to the treatment of the listed pathologies, most of which are based on the international experience of clinical and experimental research as well as achievements of national academic science. Special attention is paid to the development of cryobiological and cryomedical cell-tissue techniques, the use of those can be promising in the strengthening of both mental and physical health of civilian population during the wartime.

Key words: post-traumatic stress disorder, oncology pathology, autoimmune diseases, reproductive system dysfunction, cell therapy, cryopreservation, dendritic cells, spermatogonial cells.

Умовні скорочення:

АІЗ — аутоімунні захворювання
АСАТ — антиспермальні антитіла
ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор
ДК — дендритні клітини
ІДО — індоламін-2,3-діоксигеназа
ІКК — імунокомпетентні клітини
ІЛ — інтерлейкін
ІФН-α — інтерферон-α
КК — кордова кров
ЛККЛ — лейкоконцентрат кордової крові людини
НІЕБ — нейро-імуно-ендокринний блок
ПТСР — посттравматичний стресовий розлад

List of abbreviations

AIDs – autoimmune diseases
ASAT – antisperm antibodies
GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
DCs – dendritic cells
IDO – indoleamine-2,3-dioxygenase
ICCs – immune competent cells
IL – interleukin
IFN-α – interferon-α
CB – cord blood
HCBL – human cord blood leukoconcentrate
NIEB – neuro-immuno-endocrine block
PTSD – post-traumatic stress disorder
SSCs – spermatogonial stem cells

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52
електронна пошта: cryopato@gmail.com

*To whom correspondence should be addressed:

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952
e-mail: cryopato@gmail.com

Надійшла 30.01.2023
Прийнята до друку 17.05.2023

Received 30, January, 2023
Accepted 27, May, 2023

© Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2023
© Publisher Publishing House 'Akademperiodyka' of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2023

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ССК — сперматогоніальні стовбурові клітини
Трег — Т-регуляторні клітини
ТРФ-β — трансформуючий ростовий фактор β
ФНП-α — фактор некрозу пухлини α
CTLA-4 — цитотоксичний Т-лімфоцит-асоційований антиген 4
GILZ — глюкокортикоід-індукована лейцинова застібка
Hsp70 — білки теплового шоку з молекулярною масою 70 кДа
MHC — головний комплекс гістосумісності
NF-κB — нуклеарний фактор
NR3C1 — ядерний рецептор, підсімейство 3, група C, член 1
PD-1 — рецептор програмованої клітинної смерті 1
PD-L1 — ліганд до рецептора програмованої клітинної смерті 1

Treg – T-regulatory cells
TRF-β – transforming growth factor β
TNF-α – tumor necrosis factor α
CTLA-4 – cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4
GILZ – glucocorticoid-induced leucine zipper
Hsp70 – heat shock proteins with a molecular weight of 70 kDa
MHC – major histocompatibility complex
NF-κB – nuclear factor
NR3C1 – nuclear receptor subfamily 3 group C member 1
PD-1 – receptor of programmed cell death 1
PD-L1 – ligand for the receptor of programmed cell death 1

Після вторгнення російської армії на територію України військові й цивільні отримали значне фізичне і психоемоційне навантаження, яке супроводжується численними порушеннями систем, що складають так званий «золотий трикутник» бодігомеостазу людини — нейро-імунно-ендокринний блок (НІЕБ) [82]. Він забезпечує гомеостатичну сталість організму людини, запобігаючи порушенням його фізіологічного стану і розвитку багатьох захворювань.

Стрес супроводжує людину повсякденно і є обов'язковим чинником її життя [77]. В умовах воєнних подій вплив стресорного фактора на людину значно зростає, тому варто це врахувати і не відкладати своєчасну допомогу організму. Хронічна форма стресу призводить до порушень у функціонуванні нервової, імунної та репродуктивної систем організму, що може розбалансувати НІЕБ і спричинити розвиток онкологічних та аутоімунних захворювань, патологічних змін у функціонуванні репродуктивної системи.

Етіопатогенез онкологічних захворювань та роль стресу. За даними ВООЗ, злоякісні захворювання займають друге місце після серцево-судинних у загальному переліку хвороб, які найчастіше призводять до зниження працездатності та зростання рівня смертності населення [44]. Ріст онкологічних захворювань може бути пов'язаний зі збільшенням різноманіття канцерогенних факторів, до яких можна віднести і розбалансування функціонування систем НІЕБ в умовах суттєвого психоемоційного навантаження організму [37, 86]. Наприклад, D. Kajdaniuk та співавт. [37] продемонстрували вплив стресу на розвиток раку через порушення балансу між рівнем ендогенних опіоїдів та секреторною роботою шишкоподібної залози. Ендогенна опіоїдна система та шишкоподібна залоза порушують роботу гіпофіза, стимулюють механізми імунного захисту організму та здатні вплинути на перебіг злоякісного захворювання. Окрім гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, стрес

The Russian army invasion to the territory of Ukraine crucially affected the military servicepersons and civilians by rendering physical and psychoemotional load, which is accompanied by numerous disorders in the systems, composing the so-called 'golden triangle' of human body homeostasis – neuro-immuno-endocrine block (NIEB) [82]. It ensures the homeostatic stability of the human body, preventing the disturbances in physiological state and the development of many diseases.

Stress accompanies a person daily and is an essential factor in human life [77]. In military operations, the influence of the stress factor on a person increases strongly, so it is worth taking this into account and not delaying a timely help. A chronic stress leads to disturbed functioning of the nervous, immune and reproductive systems, which can unbalance NIEB and cause the development of oncology and autoimmune diseases, pathological changes in the functioning of the reproductive system.

Etiopathogenesis of oncology diseases and the role of stress. According to the WHO, malignant diseases take second place after cardiovascular diseases in the general list of diseases that most often lead to a reduced working capacity and an increased mortality rate of the population [44]. The growth of oncology diseases can be associated with an increase in the variety of carcinogenic factors, which include the imbalance of the functioning of the NIEB systems during significant psycho-emotional stress [37, 86]. To exemplify, D. Kajdaniuk *et al.* [37] demonstrated the influence of stress on the development of cancer because of an imbalance between the level of endogenous opioids and pineal gland secretion. The endogenous opioid system and pineal gland affect the pituitary gland, stimulate the body's immune defense mechanisms, and are able to regulate the enhancement of some cancer varieties. In addition to the hypothalamic-pituitary-adrenal system, a stress also activates the sympathetic nervous system [86]. Catecholamines (dopamine, adrenaline,



також активує симпатичну нервову систему [86]. Катехоламіни (дофамін, адреналін, норадреналін) та нейропептиди, що вивільняються, вважаються одними з біохімічних детермінант пережитого стресу. Хронічний перебіг стресових подій індукує патологічні зміни в організмі, які сприяють розвитку новоутворень, впливаючи на проліферацію та ангиогенез пухлинних клітин [86]. Суттєве підвищення адреналіну причетне до формування стійкості до апоптозу клітин пухлин передміхурової та молочної залози [74]. Відомо також про вплив підвищеного рівня адреналіну на зростання ендотелію судин та інтенсивність росту ракових клітин яєчників [52]. Припускається, що загострення інвазивності раку під впливом адреналіну опосередковано матриксними металопротеїназами. Згідно з даними А.К. Sood та співавт. [83], норадреналін майже вдвічі збільшує здатність клітин раку яєчника проникати у сусідні тканини та активувати пухлинну прогресію. У роботі G.H. Rauscher та співавт. [69] встановлено залежність підвищення агресивності протікання раку молочної залози від підвищення інтенсивності стресорного навантаження.

Найважливішим, якщо не єдиним, шляхом неоплазії є мутації послідовності ДНК [31]. Епігенетичні механізми (метилування ДНК, модифікація гістонів і некодуючих РНК) призводять до стимуляції або пригнічення транскрипції генів, відповідальних за регуляцію проліферативної активності клітин, що сприяє індукції канцерогенезу [29]. У роботі С. Pu та співавт. [67] була визначена критична роль хронічних психічних стресорів у пухлиногенезі. М.А. Argentieri та співавт. [8] продемонстрували зв'язок між метилуванням NR3C1 (ядерний рецептор (підсімейство 3, група С, член 1), яке спостерігали під час стресу, та дрібноклітинним раком легенів, раком молочної залози.

Відомо, що під час розвитку злоякісних пухлин спостерігається порушення роботи імунної системи, що обумовлює ухилення пухлинних клітин від імунної відповіді [33]. Злоякісно трансформовані клітини, на відміну від нормальних, набувають здатності самі продукувати стимулятори свого ж поділу. Вони втратили здатність до апоптозу та характеризуються відсутністю ліміту Хейфлика [39]. Однією з суттєвих характеристик злоякісного росту є так званий епітеліально-мезенхімальний перехід, коли епітеліальні ракові клітини набувають ознак мезенхімальних, і, як наслідок, мають більш недиференційований злоякісний фенотип [64].

norepinephrine) and neuropeptides released according to this mechanism are considered to be one of the biochemical determinants of experienced stress. The chronic course of stressful events induces pathological changes in the body that contribute to the development of neoplasms, influencing the proliferation and angiogenesis of tumor cells [86]. A notable increase in adrenaline is involved in the formation of resistance to apoptosis of prostate and mammary gland tumor cells [74]. It is also known about the influence of elevated adrenaline levels on the growth of vascular endothelium and the intensity of growth of ovarian cancer cells [52]. Aggravation of cancer invasiveness under the influence of adrenaline is assumed to be mediated by matrix metalloproteinases. According to A.K. Sood *et al.* [83], norepinephrine nearly doubles the ability of ovarian cancer cells to invade neighboring tissues and activate tumor progression. G.H. Rauscher *et al.* [69] reported about the dependence of increased aggressiveness of breast cancer progression on increased intensity of stressor load.

DNA sequence mutations are the most important, if not the only, way of neoplasia [31]. Epigenetic mechanisms (DNA methylation, modification of histones and non-coding RNAs) stimulate or suppress the transcription of the genes responsible for regulation of proliferative activity of cells, which contributes to the induction of carcinogenesis [29]. C. Pu *et al.* [67] determined the critical role of chronic mental stressors in tumorigenesis. M.A. Argentieri *et al.* [8] demonstrated an association between NR3C1 (nuclear receptor subfamily 3 group C member 1) methylation observed during stress and small cell lung cancer, breast cancer.

The development of malignant tumors, a malfunction of the immune system is known to be observed, that causes the evasion of tumor cells from the immune response [33]. Malignantly transformed cells, unlike normal cells, acquire the ability to produce stimulators of their own division. They have lost the ability to undergo apoptosis and are characterized with the absence of the Hayflick limit [39]. One of the essential characteristics of malignant growth is the so-called epithelial-mesenchymal transition, when epithelial cancer cells acquire mesenchymal features, and as a result have a more undifferentiated, malignant phenotype [64].

A convenient model for performing experimental studies to explore the functional characteristics of stem cancer cells, which have certain surface markers and are responsible for supporting the growth and metastasis of tumors, is



Зручною моделлю для проведення експериментальних досліджень з вивчення функціональних характеристик стовбурових ракових клітин, які мають певні поверхневі маркери і відповідають за підтримку росту та метастазування пухлин, є лінія клітин асцитної форми аденокарциноми Ерліха [26]. На цій моделі було вивчено її субпопуляційний склад та доведено найбільш високу туморогенну активність CD44^{high}-фракції і підвищення рівня експресії генів плюрипотентності (*sox-2*, *nanog* та *oct-4*) [24]. А.М. Гольцевим та співавт. [26] підкреслюється підвищена стійкість CD44^{high}-клітин до ультранизьких температур на тлі зміни імуногенних властивостей пухлини. Це обумовлює специфічну модуляцію імунної відповіді тварин-пухлиноносіїв, що супроводжується підвищенням кількості кілерних та зниженням регуляторних Т-клітин (Трег). Тобто, ультранизькі температури здатні як модифікувати структуру клітин аденокарциноми Ерліха, так і формувати нові взаємовідносини з імунною системою пухлиноносія — активувати її ефекторну ланку, що сприяє зниженню інтенсивності росту пухлини.

Стан імунної системи під час розвитку онкологічних захворювань. Однією з унікальних властивостей злоякісних пухлин є здатність індукувати імуносупресію в організмі пухлиноносія. У міру зростання пухлина набуває властивостей, які дозволяють їй ухилятися від імунного нагляду, що перешкоджає розвитку механізмів ефективної протипухлинної імунної відповіді [98]. Стратегія «протиімунного захисту» злоякісної пухлини реалізується на молекулярно-клітинному рівні та складається з редукції імунного розпізнавання та супресії функції імунних клітин пухлиноносія за рахунок зниження або втрати експресії високоімуногенних антигенів, порушення механізмів презентації антигенів тощо.

Важливо, що під час розвитку багатьох онкологічних захворювань змінюється профіль імункомпетентних клітин (ІКК) з різними функціями. Так, підвищення кількості CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Трег клітин з імуносупресивною активністю у припухлинному лімфовузлі та периферичній крові корелює з прогресуванням хвороби. Однак у хворих на лімфому та колоректальний рак підвищена кількість Трег в пухлині розглядається як сприятлива ознака пригнічування запалення. У роботі К. Лі та співавт. [49] звертається увага на супресорні клітини мієлоїдного походження, що залучені до «вислизання» пухлини від імунологічного нагляду, підвищення рівня

the Ehrlich ascites carcinoma [26]. Its subpopulation composition was studied using this model as well as the highest tumorigenic activity of the CD44^{high} fraction and increased expression of pluripotency genes (*sox-2*, *nanog* and *oct-4*) were proven [24]. A.M. Goltsev *et al.* [26] emphasized the increased resistance of CD44^{high} cells to ultralow temperatures against the background of changes in the immunogenic properties of the tumor. This causes a specific modulation of the immune response of tumor-bearing animals, which is accompanied by an increased number of killer cells and a decreased one of regulatory T cells (Treg). That is, ultra-low temperatures are capable of both modifying the structure of Ehrlich carcinoma cells and forming new relationships with the immune system of the tumor carrier, *i. e.* activating its effector link, which contributes to reducing the intensity of tumor growth.

The immune system state during the development of oncology diseases. One of the unique properties of malignant tumors is the ability to induce immune suppression in the body of the tumor carrier. As the tumor grows, it acquires properties that allow it to evade immune surveillance, that prevents the development of mechanisms for an effective antitumor immune response [98]. The strategy of ‘anti-immune protection’ of a malignant tumor is implemented at the molecular and cell level and consists of reducing immune recognition and suppressing the function of immune cells of the tumor carrier due to the reduction or loss of expression of highly immunogenic antigens, disruption of antigen presentation mechanisms, *etc.*

It is important that during the development of many oncology diseases, the profile of immune competent cells (ICCs) with different functions changes. Thus, an increased number of CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Treg cells with immune suppressive activity in the tumor lymph node and peripheral blood correlates with the progression of the disease. However, in the patients with lymphoma and colorectal cancer, an increased number of Tregs in the tumor is considered a favorable sign of inflammation suppression. In the work of K. Li *et al.* [49] the attention is drawn to suppressor cells of myeloid origin, involved in the ‘slippage’ of the tumor from immunological surveillance, a rise in the level of which in the blood directly correlates with the worsening of the clinical stage of cancer.

An increased level of interleukin-6 (IL-6) in the blood was found in most cancer patients [43].



яких у крові прямо корелює з погіршенням клінічної стадії раку.

У більшості онкохворих встановлено підвищення рівня інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) в крові [43]. Він посилює формування антитіл, що блокують антигени пухлини, захищаючи її від руйнування ІКК. Здатність «приховувати» пухлинні клітини від цитотоксичних ІКК притаманна і позаклітинним пасткам нейтрофілів, які формуються під час онкопатології і містять супресорні молекули ліганда до рецептора програмованої клітинної смерті (PD-L1) [100]. Інстинкт «самозбереження» пухлини підтверджується за рахунок підвищення експресії молекул цитотоксичного Т-лімфоцит-асоційованого антигену 4 (CTLA-4) і рецептора програмованої клітинної смерті (PD-1) на лімфоцитах, що пригнічують активацію Т-клітин під час взаємодії з CD80/CD86 лігандами на антиген-презентуючих клітинах [100].

Серед усього різноманіття ІКК, що причетні до контролю розвитку пухлинного процесу, слід виділити дендритні клітини (ДК), які є гетерогенною популяцією професійних антиген-презентуючих клітин. J.J. Karrich та співавт. [38] порівнюють широкий спектр функцій ДК з поліфункціональністю швейцарського армійського ножа. Дендритні клітини відіграють ключову роль в ініціації та підтримці протипухлинного імунітету, при цьому поєднуючи зусилля вродженої та набутої ланок імунної системи. Незрілі ДК, незважаючи на синтез молекул головного комплексу гістосумісності (МНС) I і II класів, характеризуються як низькою експресією ко-стимуляторних молекул, так і здатністю продукувати прозапальні цитокіни [41]. Дозрівання таких ДК відбувається після захоплення антигенів злочасних структур під впливом місцевих пухлинних і стромальних стимулів. Так, спостерігається стабілізація комплексу пептидних фрагментів чужорідних антигенів з молекулами МНС, що призводить до підвищення експресії ко-стимуляторних молекул на поверхні антиген-презентуючих клітин, [41], після чого дозріваючі ДК мігрують у лімфоїдні органи для презентації пухлинних антигенів певним групам Т-клітин [93]. На цьому етапі імунної відповіді наявність інфільтруючих пухлину ДК є сприятливим прогностичним маркером перебігу неопластичного процесу. Важливо, що на взаємодію між імунними та пухлинними клітинами впливає не лише кількість інфільтруючих ДК, але і стан їх зрілості, який змінюється залежно від стадії росту пухлин. Новоутворення має своє мікрооточення пухлинних клітин, яке інгібує можливість ініціації ефективної імунної проти-

It enhances the formation of antibodies that block tumor antigens, protecting it from the destruction of ICCs. The ability to 'hide' tumor cells from cytotoxic ICCs is inherent in the extracellular traps of neutrophils, which are formed during onco-pathology and contain PD-L1 suppressor molecules [100]. The tumor's 'self-preservation' instinct is confirmed by increased expression of CTLA-4 and PD-1 molecules on lymphocytes, which suppress T-cell activation during interaction with CD80/CD86 ligands on antigen-presenting cells [100].

Among the variety of the ICCs involved in the control of tumor development, the dendritic cells (DCs), which are a heterogeneous population of professional antigen-presenting cells, should be highlighted. J.J. Karrich *et al.* [38] compared a wide range of DC functions with the multifunctionality of a Swiss army knife. Dendritic cells play a key role in the initiation and maintenance of antitumor immunity, while combining the efforts of the innate and acquired links of the immune system. Despite the synthesis of class I and II MHC molecules, immature DCs are characterized by both low expression of co-stimulatory molecules and the ability to produce pro-inflammatory cytokines [41]. Maturation of such DCs occurs after capture of antigens of malignant structures under the influence of local tumor and stromal stimuli. Thus, stabilization of the complex of peptide fragments of foreign antigens with MHC molecules is observed, which leads to increased expression of co-stimulatory molecules on the surface of antigen-presenting cells, [41], after that the maturing DCs migrate to lymphoid organs to present tumor antigens to certain groups of T cells [93]. At this stage of the immune response, the presence of DCs infiltrating the tumor is a favorable prognostic marker of the course of the neoplastic process. It is important that the interaction between immune and tumor cells is influenced not only by the number of infiltrating DCs, but also by their maturity state, changing depending on the tumor growth stage. The neoplasm has its own microenvironment of tumor cells, inhibiting the possible initiation of an effective immune antitumor response due to the presence of angiogenesis-stimulating plasmacytoid DCs, which have pronounced immune suppressive properties. Thus, the tumor microenvironment forms immune suppressive DCs, promoting tumor progression.

Dendritic cells infiltrating the tumor reveal increased expression of PD-L1 molecules, which interact with PD-1 molecules on the surface of T-lymphocytes and cause their apoptosis [46].

пухлинної відповіді за рахунок присутності ангиогенезстимулюючих плазмацитоїдних ДК, які володіють вираженими імуносупресорними властивостями. Таким чином, пухлинне мікрооточення формує імуносупресорні ДК, сприяючи прогресуванню пухлини.

Дендритні клітини, що інфільтрують пухлину, виявляють підвищену експресію молекул PD-L1, які взаємодіють з молекулами PD-1 на поверхні Т-лімфоцитів і викликають їх апоптоз [46]. Накопичення таких ДК у пухлині супроводжувалося інгібуванням процесу інфільтрації пухлинної тканини Т-лімфоцитами.

Таким чином, розуміння механізмів та ідентифікація факторів, задіяних в індукції таких імуносупресивних ДК у мікрооточенні пухлини, відкривають нові шляхи лікування онкологічних захворювань, коли основну значимість матиме відновлення імуностимулюючого і ефекторного потенціалу інфільтруючих пухлину ДК.

Принципи лікування онкологічних захворювань. Розповсюдженими методами лікування злоякісних пухлин є хіміо- і променева терапія, хірургічні та кріохірургічні методи, а також комплексне їхнє застосування [76]. Останнім часом звертається увага на можливість лікування хворих на онкологічні захворювання з використанням наноматеріалів [7]. Мова йде про створення багатофункціональних наноматеріалів, які здатні бути терапевтичною сполукою та виявляти пухлинні структури. Така особливість наноматеріалів сприяла формуванню сучасного напрямку розвитку фундаментально-прикладних розробок — нанотераностики. Перспективним є використання наночасток ортованадатів рідкісноземельних елементів $GdYVO_4:Eu^{3+}$ і створених на їх основі та холестерину нанокмплексів, розроблених в Інституті сцинтиляційних матеріалів (ІСМА) НАН України [6]. В ІПКіК НАН України та ІСМА НАН України було теоретично обґрунтовано і експериментально доведено ефективність нанокмполітів в ідентифікації стовбурових ракових клітин та інактивації розвитку раку молочної залози на експериментальній моделі аденокарциноми Ерліха [27].

Також було встановлено, що протипухлинна дія нанокмплексів обумовлена порушенням функції мітохондрій з підвищенням рівня продукції активних форм кисню і подальшою індукцією апоптотичних або некротичних процесів у пухлинних клітинах [27]. Використання нанокмплексів супроводжувалося пригніченням росту пухлини майже на 80% і суттєвим зрос-

Accumulation of such DCs in the tumor was accompanied by inhibition of the tumor tissue infiltration by T-lymphocytes.

Thus, the understanding of the mechanisms and the identification of factors involved in the induction of such immune suppressive DCs in the tumor microenvironment open up new ways of treating oncology diseases, where the restoration of the immune stimulatory and effector potential of infiltrating tumor DCs will be of primary importance.

Principles of cancer treatment. Common treatment of malignant tumors are chemo- and radiation therapies, surgeries and cryosurgeries, as well as their complex application [76]. Recently, an attention has been drawn to the possibility of treating the cancer patients with the use of nanomaterials [7]. It is about the creation of multifunctional nanomaterials that can be a therapeutic compound and detect tumor structures. This ability of nanomaterials contributed to the formation of such a modern direction of fundamental and applied research as nanotheranostics. It is promising to use the nanoparticles of orthovanadates of rare earth elements $GdYVO_4:Eu^{3+}$ and nanocomplexes created on their basis and cholesterol, developed at the Institute for Scintillation Materials (ISMA) of the National Academy of Sciences of Ukraine [6]. At the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine (IPC&C) of the National Academy of Sciences of Ukraine and ISMA of the National Academy of Sciences of Ukraine, the effectiveness of nanocomposites in identifying stem cancer cells and inactivating the development of breast cancer in the experimental model of Ehrlich carcinoma was theoretically substantiated and experimentally proven [27].

It was also established that the antitumor effect of nanocomplexes was due to a disordered functioning of mitochondria with an increased production of reactive oxygen species and the subsequent induction of apoptotic or necrotic processes in tumor cells [27]. The use of nanocomplexes was accompanied by inhibition of tumor growth by almost 80% and a significant increase of animals' survival. Elucidation of the mechanisms of antitumor action of nanocomplexes also demonstrated a significant decrease in the concentration of the most tumorigenic cells with the $CD44^{high}$ phenotype, which are classified as cancer stem cells. It is important that after the use of nanocomplexes there is a change in the ratio of cells with the $CD44^{high}$ and $CD117^+$ phenotype in the tumor and the possibility of using this index as a diagnostic



танням виживаності тварин. З'ясування механізмів протипухлинної дії наноконструкцій продемонструвало також суттєве зниження концентрації найбільш пухлиногенних клітин з фенотипом CD44^{high}, що віднесені до стовбурових ракових клітин. Суттєвими після використання наноконструкцій є зміна співвідношення в пухлині клітин з фенотипом CD44^{high} та CD117⁺ і можливість використання цього показника у якості діагностичного і прогностичного маркера розвитку або інактивації пухлинного процесу [1]. Особливо важливими є встановлені дані щодо здатності наноконструкцій впливати на стан геномно-післягеномних каскадів клітин аденокарциноми Ерліха: інгібування рівня експресії генів плюрипотентності (*nanog*, *oct4*, *sox2*) і факторів транскрипції (*nanog* та *Oct3/4*) пухлинних CD44⁺-клітин [24]. Одночасне зниження вмісту в загальному пулі аденокарциноми Ерліха клітин з маркером Ki-67 підтверджує інгібіцію проліферативного потенціалу пухлинних клітин під впливом наноконструкцій [27]. Оскільки синтезовані наноконструкції віднесені до малотоксичних речовин, то можливе їх використання у якості протипухлинних наноконструктурованих форм лікарських препаратів [25].

Серед широкого спектру методів лікування онкозахворювань особливе місце займає імунотерапія, яка складається з активної (індукує протипухлинні імунні реакції) і пасивної (в організм переносять ІКК або цитокіни, що опосередковують протипухлинний ефект). При адаптивній імунотерапії здійснюється перенесення живих ІКК, які формують протипухлинну імунну відповідь. Серед перспективних підходів до лікування онкохворих є таргетна активація Т-клітинного протипухлинного імунітету зрілими імунними ДК, яка ще у 2010 році отримала схвалення Управління з продовольства і медикаментів США (FDA, Food and Drug Administration) і використовується сьогодні [41]. Імунні ДК входять до складу протипухлинних вакцин і застосовуються для посилення імуногенності пухлинних клітин [30]. Для виготовлення протипухлинної вакцини ДК отримують із мононуклеарів периферичної крові або кісткового мозку [41]. Незалежно від джерела походження, ДК навантажують антигенами пухлинних тканин у вигляді пептидів, білків, цілісних лізатів убитих пухлинних клітин [81]. Показано, що для суттєвої активації Т-клітинної відповіді на пухлинні антигени потрібне багаторазове введення ДК [18]. Враховуючи трудомісткість і високу ціну процедури їхнього отримання *ex vivo*, альтернативним рішенням є криоконсервування ДК

and prognostic marker for the tumor development or inactivation [1]. Particularly important are the established data on the ability of nanocomplexes to influence the state of the genomic-post-genomic cascades of Ehrlich carcinoma cells: inhibition of the expression level of pluripotency genes (*nanog*, *oct4*, *sox2*) and transcription factors (*nanog* and *Oct3/4*) of tumor CD44⁺ cells [24]. A simultaneous decrease in the content of cells with the Ki-67 marker in the general pool of Ehrlich carcinoma confirms the inhibition of the proliferative potential of tumor cells under the influence of nanocomplexes [27]. Since the synthesized nanocomplexes are classified as low-toxic substances, it is possible to use them as antitumor nanostructured drugs [25].

Among the wide range of cancer treatment methods, a special place is occupied by immune therapy, which consists of active (induces antitumor immune reactions) and passive (introduce ICC or cytokines that mediate an antitumor effect into the body). In adaptive immunotherapy, the live ICCs are transferred, that forms an antitumor immune response. Among the promising approaches to the treatment of cancer patients is the targeted activation of T-cell antitumor immunity by mature immune DCs, which was approved by the US Food and Drug Administration (FDA) in 2010 and is used today [41]. Immune DCs are part of antitumor vaccines and are used to enhance the immunogenicity of tumor cells [30]. To produce an antitumor vaccine, DCs are obtained from peripheral blood or bone marrow mononuclear cells [41]. Regardless of the source of origin, DCs are loaded with tumor tissue antigens in the form of peptides, proteins, whole lysates of killed tumor cells [81]. It has been shown that significant activation of the T-cell response to tumor antigens requires repeated administration of DCs [18]. Considering the time-consuming and expensive procedure of their *ex vivo* obtaining, an alternative solution is cryopreservation of DCs in sufficient quantities and use of them as needed. In most clinical trials, the mature, antigen-loaded DCs ready to be applied in immunotherapy were cryopreserved [56].

It has been repeatedly emphasized that the effectiveness of cryopreservation of various biological objects depends on their initial state [3]. This thesis is confirmed by the results of H. Hayden *et al.* [28], wherein they demonstrated that, depending on the degree of maturity, DCs had different cryosensitivity. It is known that there are differences in the structural organization between DCs and their precursors – monocytes. For example, monocytes have a higher nuclear-



у достатніх кількостях і використання за мірою необхідності. У більшості клінічних випробувань кріоконсервуванню піддавали зрілі навантажені антигеном ДК, які готові до використання в імунотерапії [56].

Неодноразово наголошувалося, що ефективність кріоконсервування різних біологічних об'єктів залежить від їхнього початкового стану [3]. Цей тезис підтверджується результатами роботи Н. Hayden та співавт. [28], у якій показано, що залежно від ступеня зрілості ДК мали різну кріочутливість. Відомо, що відмінності існують і в структурній організації між ДК та їх попередниками — моноцитами. Наприклад, моноцити мають більш високе ядерно-цитоплазматичне відношення та меншу кількість мітохондрій, за рахунок чого вони повільніше споживають кисень порівняно з отриманими з них зрілими ДК, що передбачає використання різних умов їх ефективного кріоконсервування.

На сьогодні не розроблено єдиного протоколу кріоконсервування імунних ДК. У наявних протоколах кріоконсервування імунних ДК для клінічного застосування використовують не менше 5% ДМСО, гідроксиетилкрохмаль, сироватку або плазму крові [28]. У роботі P. Shinde та співавт. [79] вказується на можливе введення в середовище для кріоконсервування глюкози або трегалози. Так, заморожені в присутності ДМСО та трегалози імунні ДК були меншою мірою схильні до апоптотичної загибелі порівняно з імунними ДК, кріоконсервованими з додаванням лише ДМСО.

Думка більшості дослідників щодо «лояльності» програми кріоконсервування мононуклеарів, моноцитів та незрілих ДК до -196°C збігається в необхідності використання в цих програмах повільної швидкості охолодження: 1 град/хв до -80°C з наступним зануренням у рідкий азот та відігрівом при 37°C [28, 47]. Температура тривалого низькотемпературного зберігання в рідкому азоті варіювала від -150 до -196°C (в межах газової або рідкої фази азоту) [35, 79].

Останнім часом акцентується увага на перспективності використання в імунотерапії раку кріомікроглобок з імунними ДК [16], які можна зберігати як за -80°C , так і за -196°C . Вакцинація імунними ДК, навантаженими овальбуміном з використанням кріомікроглобок, має більш потужну антиген-специфічну імунну відповідь порівняно з підшкіряною або внутрішньовенною.

P. Lewalle та співавт. [48] продемонстрували, що заморожування-відтавання не змінює фенотип та функцію імунних ДК, хоча в роботі

cytoplasmic ratio and a smaller number of mitochondria, due to which they consume oxygen more slowly compared to mature DCs obtained from them, which implies the use of different conditions for their effective cryopreservation.

To date, a single protocol for cryopreservation of immune DCs has not been developed. In existing protocols for cryopreservation of immune DCs for clinical use, at least 5% DMSO, hydroxyethyl starch, serum or blood plasma are applied [28]. In the paper of P. Shinde *et al.* [79] the possible introduction of glucose or trehalose into the medium for cryopreservation was indicated. Thus, immune DCs frozen in the presence of DMSO and trehalose were less prone to apoptotic death compared to immune DCs cryopreserved with the addition of DMSO alone.

The opinion of most researchers regarding the 'loyalty' of the program of cryopreservation of mononuclear cells, monocytes and immature DCs to -196°C coincides with the need to use a slow cooling rate in these programs: 1 deg/min to -80°C followed by immersion in liquid nitrogen and re-warming at 37°C [28, 47]. The temperature of long-term low-temperature storage in liquid nitrogen varied from -150 to -196°C (within the gas or liquid nitrogen phase) [35, 79].

Recently, attention has been focused on the prospects of using cryomicroneedles with immune DCs in cancer immune therapy [16], which can be stored both at -80 and -196°C . Vaccination with immune DCs loaded with ovalbumin using cryomicroneedles has a more potent antigen-specific immune response compared to subcutaneous or intravenous introduction.

P. Lewalle *et al.* [48] demonstrated that freeze-thawing did not change the phenotype and function of immune DCs, although in the work of Q. Zhou *et al.* [101] the cryopreservation was shown to change the homing ability of immune DCs and the implementation of their inherent functions. That is, cryopreservation can really be a tool for managing the structural and functional state of various cells [3, 47]. This opens up prospects for the formation of various types of DCs 'to order'.

Etiopathogenesis of autoimmune diseases, the role of stress. Post-traumatic stress disorder (PTSD) is the consequence of the human body being under significant psycho-emotional stress. The immune system is very sensitive to stressors, therefore, as a rule, PTSD is accompanied by increased development of autoimmune diseases (AIDs) [3, 61, 82]. The results of surveys of participants in various US wars confirm the relationship bet-



Q. Zhou та співавт. [101] показано, що кріоконсервування призводить до зміни здатності імунних ДК до хомінгу та реалізації притаманних їм функцій. Тобто, кріоконсервування дійсно може бути інструментом управління структурно-функціональним станом різних типів клітин [3, 47]. Це відкриває перспективи формування різних типів ДК «під замовлення».

Етіопатогенез аутоімунних захворювань, роль стресу. Наслідками перебування організму людини в умовах суттєвих психоемоційних навантажень є посттравматичний стресовий розлад (ПТСР). Імунна система дуже чутлива до стресорного впливу, тому, як правило, ПТСР супроводжується підвищенням розвитку аутоімунних захворювань (АІЗ) [3, 61, 82]. Результати обстежень учасників різних війн США підтверджують зв'язок між ПТСР і декількома типами АІЗ (ревматоїдним артритом, псоріазом, розсіяним склерозом і системним червоним вовчаком) [61]. Цікавим є той факт, що коли пацієнти з ПТСР у перший рік після встановлення діагнозу приймали препарати групи інгібіторів зворотнього захоплення серотоніну, то ризик розвитку АІЗ знижувався [82], підтверджуючи взаєморегуляцію в НІЕБ. Тривале перебування в умовах стресорного стану викликає зниження рівня гормону кортизолу, який володіє імуномодулюючою активністю, та експресії глюкокортикоїдних рецепторів, обумовлюючи загострення перебігу АІЗ або підвищення схильності до розвитку подібних патологій [82]. При ПТСР відбувається підвищення рівня прозапальних цитокінів і транскрипції нуклеарного фактора κB (NF-κB) [62], що є ознаками розвитку аутоімунної патології [47].

Різноманіття АІЗ вражає, а темпи їх розповсюдження турбують. Аутоімунні захворювання, особливо на початкових етапах розвитку, не мають якихось суттєвих ознак. Спадкова схильність і деяка сукупність зовнішніх факторів виступають у ролі тригерів АІЗ. Етіопатогенез цих захворювань до теперішнього часу залишається до кінця нез'ясованим, хоча загалом він пов'язаний з активацією відповіді субстратів імунної системи (ІКК, антитіл тощо) на антигени власного організму. Останнім часом стрес і супутні з ним розлади пов'язують з розвитком АІЗ [82]. Надпродукція гормонів нейроендокринної ланки в умовах надважкого стресу є тригером порушення стану імунної системи, що зрештою призводить до розвитку АІЗ [82].

Стан імунної системи після розвитку аутоімунних захворювань. Класичними гіпоте-

ween PTSD and several types of AIDs (rheumatoid arthritis, psoriasis, multiple sclerosis, and systemic lupus erythematosus) [61]. Interestingly, when the patients with PTSD took serotonin reuptake inhibitor drugs in the first year after diagnosis, the risk of AIDA was reduced [82], confirming interregulation in NIEB. Prolonged exposure to stressful conditions causes a decreased level of the hormone cortisol, having an immune modulatory activity, and the expression of glucocorticoid receptors, leading to an exacerbation of AIDs or a rise the tendency to develop similar pathologies [82]. In PTSD, there is an increased level of pro-inflammatory cytokines and the transcription of nuclear factor κB (NF-κB) [62], which are the signs of autoimmune pathology development [47].

The diversity of AIDs is impressive, and the pace of their spread is disturbing. AIDs, especially at the initial stages of development, do not have any significant signs. Hereditary predisposition and some combination of external factors act as triggers of AIDs. The etiopathogenesis of these diseases is still not completely clear, although it is generally associated with the activation of the response of immune system substrates (ICCs, antibodies, etc.) to the antigens of the body. Recently, stress and associated disorders have been associated with the development of AIDs [82]. Overproduction of hormones of the neuroendocrine link in conditions of extreme stress is a trigger for a disordered state of the immune system, which ultimately leads to the development of AIDs [82].

Immune system state during autoimmune diseases. The existence of molecular mimicry due to the presence of similar epitopes of foreign and self-antigens, polyclonal activation of T- and B-lymphocytes to bacterial polysaccharides, viruses, adjuvant effect of the microenvironment, etc. are considered classic hypotheses of AIDs pathogenesis [11].

One of the hypotheses of AIDs development is also the spread of the spectrum of immunogenic epitopes due to the modification of the quaternary structure of the body's own proteins. The reason for this may be the chronicity of inflammation and superproduction of reactive oxygen species due to the 'cytokine storm', which, for example, was observed in COVID-19 [4]. A significant breakthrough in understanding the pathogenesis of AIDs was the determination of the role of Tregs in maintaining tolerance to self-antigens [72]. These cells produce anti-inflammatory cytokines



зами патогенезу АІЗ вважаються існування молекулярної мімікрії, обумовленої наявністю аналогічних епітопів чужорідних і власних антигенів, поліклональна активація Т- і В-лімфоцитів на бактеріальні полісахариди, віруси, ад'ювантний ефект мікрооточення тощо [11].

Однією з гіпотез розвитку АІЗ також є поширення спектру імуногенних епітопів внаслідок модифікації четвертинної структури власних білків організму. Причиною цього може бути хронізація запального процесу і суперпродукція активних форм кисню, обумовлених «цитокіновим штормом», що, наприклад, спостерігалось в умовах COVID-19 [4]. Істотним проривом розуміння патогенезу АІЗ стало визначення ролі Трег у підтримці толерантності до власних антигенів [72]. Ці клітини продукують протизапальні цитокіни (ІЛ-10, ІЛ-35, трансформуючий ростовий фактор β (ТРФ- β), galectin-1) або безпосередньо інгібують ефекторні клітини шляхом продукції гранзиму В і перфоринів. Для багатьох АІЗ людини та їх експериментальних моделей у тварин характерне зниження кількості Трег та/або їх супресорної функції [2, 72]. Вважається, що як при ініціації, так і розвитку АІЗ спостерігається дисбаланс кількості або функції антиподних субпопуляцій Т \times 17 та Трег [59]. В останній час вчені інтенсивно досліджують порушення епігенетичної регуляції транскрипції генів у клітинах при АІЗ [54]. У роботі Y.S. Kim та співавт. [40] вивчали роль сигнального медіатора — запального індукваного холодом РНК-зв'язуючого білка (Cold-inducible RNA-binding protein), який з'являється під час різних стресових впливів, виконуючи функцію шаперону у забезпеченні трансляції білків. Активну роль у підтримці запалення у хворих на АІЗ відіграють макрофаги з високою стійкістю до апоптозу, сприяючи тим самим подовженню імунозапального процесу [3], та натуральні кілери — CD16⁺, CD56⁺, що продукують підвищені рівні запальних ІЛ-22 і фактору некрозу клітин (ФНП- α) в синовіальній рідині. Ідентифікація біомаркерів АІЗ є актуальним сучасним напрямком вивчення етіопатогенезу АІЗ. Окрім вже відомих антитіл до пептиду цитруліну, який є продуктом рощеплення аргініну, у сироватці крові хворих на ревматоїдний артрит виявлені антитіла до карбамільованих білків, які мають більш високу специфічність [65]. Встановлено, що N-глікани IgG у сироватці крові людини [20] пов'язані з прозапальною активністю антитіл.

Останнім часом суттєво зросла увага щодо ролі толерогенних ДК в регуляції імунозапаль-

(IL-10, IL-35, TRF- β , galectin-1) or directly inhibit effector cells through the production of granzyme B and perforins. A decrease in the number of Tregs and/or their suppressive function is characteristic for many AIDs in humans and their experimental animals [2, 72]. An imbalance in the number or function of antipodal Tx17 and Treg subpopulations is believed to be observed both during the initiation and development of AIDs [59]. Recently, scientists have been intensively investigating the disordered epigenetic regulation of gene transcription in cells with AIDs [54]. Y.S. Kim *et al.* [40] studied the role of a signal mediator, *i. e.* the inflammatory cold-inducible RNA-binding protein, which appears during various stress effects, performing the function of a chaperone in ensuring protein translation. Macrophages with high resistance to apoptosis play an active role in maintaining inflammation in patients with AIDs, thereby contributing to the prolongation of the immune inflammation [3], and natural killers — CD16⁺, CD56⁺, producing the increased levels of inflammatory IL-22 and TNF- α in synovial fluid. Identification of AIDs biomarkers is a relevant modern direction of studying the etiopathogenesis of AIDs. In addition to the already known antibodies to the citrulline peptide, being a product of arginine cleavage, antibodies to carbamylated proteins, which have a higher specificity, were detected in the blood serum of patients with rheumatoid arthritis [65]. It has been established that IgG N-glycans in human serum [20] are associated with the pro-inflammatory activity of antibodies.

Recently, there has been an increasing attention to the role of tolerogenic DCs in the regulating of immune inflammation in AIDs, in particular, suppression of the immune response [57]. Isolated *ex vivo* tolerogenic DCs express membrane markers CD14, CD16, CD141 and CD163, have a unique profile of anti-inflammatory cytokines and a high IL-10/IL-12 ratio. Tolerogenic DCs contribute to the maintenance of the state of tolerance in the periphery using several mechanisms, in particular through the production of indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO), heme oxygenase-1, IL-10, TRF β , which inhibit activated T-cells, inhibit their proliferation and transform naive T-cells on Treg. The need for a strategy of tolerance formation in AIDs with the involvement of tolerogenic DCs as a component of adoptive therapy determines the importance of expanding the sources of their acquisition and developing methods of their generation.



них процесів при АІЗ, зокрема пригнічуванні імунної відповіді [57]. Виділені *ex vivo* толерогенні ДК експресують мембранні маркери CD14, CD16, CD141 та CD163, мають унікальний профіль протизапальних цитокінів і високе співвідношення ІЛ-10/ІЛ-12. Толерогенні ДК сприяють підтримці стану толерантності на периферії за допомогою декількох механізмів, зокрема шляхом продукції індоламін-2,3-диоксигенази (ІДО), гемоксигенази-1, ІЛ-10, ТРФβ, які інгібують активовані Т-клітини, пригнічують їх проліферацію та перетворюють наївні Т-клітини на Трег. Необхідність стратегії формування толерантності при АІЗ за участю толерогенних ДК у вигляді компонента адаптивної терапії обумовлює важливість розширення джерел їх отримання та розробки способів генерування.

Сучасні підходи до лікування АІЗ. Лікування АІЗ залишається однією з найбільш актуальних проблем медицини. Загальна імуносупресія запобігає прогресуванню аутоімунних реакцій, однак супроводжується ризиком розвитку онкологічних та інфекційних захворювань [92]. Дійсно, застосування при ревматоїдному артриті препарату базисної терапії «Метотрексату» (Фармахеми Б.В., Ізраїль) підвищує кількість і супресорну активність Трег. При цьому пригнічується продукція прозапальних цитокінів (ФНП-α, ІЛ-6, ІЛ-1β, ІЛ-17 тощо). Однак терапія «Метотрексатом» рідко приводить до стійкого покращення стану пацієнтів з АІЗ і повної відмови від медикаментів [32]. Монотерапія «Метотрексатом» може бути посилена шляхом проведення короткого курсу лікування глюкокортикоїдами у низьких дозах, але і в цьому випадку можливі небажані ефекти: прогресування остеопорозу, ризику розвитку інфекційних, серцево-судинних ускладнень.

До росповсюджених методів лікування АІЗ також відносять застосування блокаторів прозапальних цитокінів. Наприклад, інфліксимаб, який являє собою химерні моноклональні антитіла до ФНП-α та інгібує його синтез, може призвести до збільшення ризику інфекцій і злякисних новоутворень [73]. Лікування АІЗ внутрішньовенним імуноглобуліном (IVIg) ускладнюється його дороговартістю та обмеженою кількістю [60].

В останні роки акцентується увага на можливості індукції та посиленні функції Трег *in vivo* за допомогою дауринола, який здатний індукувати деметильовання ДНК у промоторній ділянці гена *Foxp3* в Трег-клітинах. Для підвищення функціональної стабільності Трег застосовуються також технології, що включають ре-

Modern approaches to AIDs treatment. Treatment of AIDs remains one of the most urgent problems of medicine. Although general immune suppression prevents the progression of autoimmune reactions, it is accompanied by the risk of developing oncological and infectious diseases [92]. Indeed, the use of the basic therapy drug 'Methotrexate' (Pharmahemi B.V., Israel) in rheumatoid arthritis increases the number and suppressor activity of Treg. At the same time, the production of pro-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-6, IL-1β, IL-17, etc.) is inhibited. However, 'Methotrexate' therapy rarely leads to a stable improvement in the condition of patients with AIDs and complete rejection of medications [32]. Although 'Methotrexate' monotherapy can be enhanced by conducting a short course of treatment with glucocorticoids in low doses, even in this case undesirable effects are possible: progression of osteoporosis, risks of developing infectious and cardiovascular complications.

The use of pro-inflammatory cytokine blockers is also a common treatment method for AIDs. For example, infliximab, which is a chimeric monoclonal antibody against TNF-α and inhibits its synthesis, may lead to an increased risk of infections and malignancies [73]. Treatment of AIDs with intravenous immunoglobulin (IVIg) is complicated by its high cost and limited availability [60].

Recently an attention has been focused on the possibility of inducing and enhancing the function of Treg *in vivo* with the help of daurinol, which is able to induce DNA demethylation in the promoter region of the *Foxp3* gene in Treg cells. To raise the functional stability of Treg, there are also used the technologies, including editing their genome using RNA-guided endonucleases (CRISPR/Cas-9 technology) [71]. Currently, other types of cells with a suppressive function are being studied, in particular, immature cells of myeloid origin and regulatory macrophages, tolerogenic DCs acting through IDO, IL-10, TRF-β and capable of inhibiting activated T cells, suppressing their proliferation and converting naive T – cells to Treg.

The multifactor nature of AIDs development explains the difficulties not only in their diagnosis, but also in their treatment. Disorders of the mutual regulatory activity of various populations and subpopulations of ICCs, deviations from the physiological level of pleiotropic cytokines produced by them, can significantly distort the functional properties of NIEB. Therefore, the use of cell and tissue therapy drugs with suprasystemic



дагування їх генома з використанням РНК-керо-
ваних ендонуклеаз (технологія CRISPR/Cas-9)
[71]. На теперішній час досліджуються інші типи
клітин з супресивною функцією, зокрема незрілі
клітини міелоїдного походження та регулятор-
ні макрофаги, толерогенні ДК, що діють через
ІДО, ІЛ-10, ТРФ- β і здатні інгібувати активовані
Т-клітини, пригнічувати їх проліферацію та пере-
творювати наївні Т-клітини на Трег.

Мультифакторність розвитку АІЗ зумовлює
труднощі не тільки їхньої діагностики, але і
лікування. Порушення взаєморегулюючої актив-
ності різних популяцій і субпопуляцій ІКК, від-
хилення від фізіологічного рівня плейотропних
цитокінів, що вони продукують, можуть суттєво
спотворювати функціональні властивості НІЕБ.
Тому для корекції систем НІЕБ перспективним
може бути використання препаратів клітинної
та тканинної терапії з надсистемною регуля-
цією [13].

*Використання толерогенних ДК у терапії
АІЗ.* Клінічним випробуванням толерогенних ДК
передували дослідження на експериментальних
моделях ревматоїдного артрити, хвороби «тран-
сплантат проти хазяїна» тощо [84]. Саме резуль-
тати експериментальних досліджень дозволили
перейти до клінічних випробувань толерогенних
ДК з позитивними результатами лікування цук-
рового діабета І типу, хвороби Крона, ревма-
тоїдного артрити та розсіяного склерозу. Бага-
то дослідників і клініцистів вважають, що хоча
терапія на основі аутологічних толерогенних
ДК, отриманих *ex vivo*, дорога і потребує бага-
то часу, її перевага полягає у таргетному впливі
толерогенних ДК на аутореактивні Т-клітини
з одночасною індукцією формування Трег [84].
При цьому вкрай важливим є питання розширен-
ня джерел отримання попередників толероген-
них ДК, а саме, мононуклеарних клітин, моно-
цитів периферичної крові або кісткового мозку.
Потенційним джерелом отримання толероген-
них ДК для клітинної терапії може бути кордова
кров (КК) [66, 68]. Зазначено, що ДК з КК вияв-
ляють більш незрілий фенотип і мають зниже-
ну здатність до продукції запальних цитокінів
ФНП- α і ІФН- α , ніж отримані з периферичної
крові людини, проте більш ефективно індукують
Трег.

Важливе значення в оцінці функціональних
властивостей отриманих *ex vivo* ДК має іден-
тифікація біомаркерів, притаманних саме толеро-
генним ДК. Для них характерні низька експресія
костимуляторних (CD80, CD86, CD83) і МНС
молекул, підвищена експресія CD11b-молекули

regulation may be promising for the correction
of NIEB systems [13].

Use of tolerogenic DCs in therapy of AIDs.
Clinical trials of tolerogenic DCs were preceded
by studies in experimental models of rheumatoid
arthritis, graft-versus-host disease, *etc.* [84]. The
very the results of experimental studies enabled
to proceed to clinical trials of tolerogenic DCs
with positive results in treatment of Diabetes
type I, Crohn's disease, rheumatoid arthritis, and
multiple sclerosis. Many researchers and clinicians
believe that although therapy based on autologous
tolerogenic DCs obtained *ex vivo* is expensive
and time-consuming, its advantage is the targeted
effect of tolerogenic DCs on autoreactive T cells
with the simultaneous induction of Treg formation
[84]. At the same time, it is extremely important
to expand the sources of obtaining precursors
of tolerogenic DCs, namely, mononuclear cells,
monocytes of peripheral blood or bone marrow.
A potential source of obtaining tolerogenic DCs
for cell therapy can be cord blood (CB) [66, 68].
It is noted that DCs derived from CB reveal a more
immature phenotype and have a reduced ability
to produce inflammatory cytokines TNF- α and
IFN- α , than those obtained from human peripheral
blood, however, more effectively induce Treg.

Identification of biomarkers specific to tole-
rogenic DCs is important in assessing the functional
properties of *ex vivo* DCs. They are characterized
by low expression of co-stimulatory (CD80, CD86,
CD83) and MHC molecules, increased expression
of CD11b-molecule of the integrin class [95].
The prime transcriptional marker formed in
DCs under the influence of glucocorticoids and
determining their tolerogenicity is a protein known
as glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ)
[14]. Its anti-inflammatory activity is realized
through the inhibition of the function of transcrip-
tion factors: activating protein-1, NF- κ B, PD-L1,
which contributes to the increase in the production
of IL-10. It is crucial that the expression of the
transcription factor GILZ in DC is accompanied
by the induction of Treg with high expression of
the transcription factor *Foxp3* [14]. In tolerogenic
DCs induced by 'Dexamethasone' (KRKA, MD,
Slovenia), an increased level of expression of the
idol gene, which forms immune tolerance due to the
activation of the suppressor link of immunity, was
observed [72].

It should be noted that the chain of use of cell
and tissue therapy in clinical practice requires the
cryopreservation of biomaterial for the purpose of its
storage and application as necessary [3, 55].



класу інтегринів [95]. Важливим транскрипційним маркером, що формується у ДК під впливом глюкокортикоїдів і визначає їх толерогенність, є білок, відомий як глюкокортикоїд-індукована лейцинова застібка (*GILZ*) [14]. Його протизапальна активність реалізується через інгібіцію функції транскрипційних факторів: активуючого протеїну-1, NF- κ B, PD-L1, що сприяє збільшенню продукції IL-10. Суттєво, що експресія транскрипційного фактора *GILZ* у ДК супроводжується індукцією Трег з високою експресією транскрипційного фактора *Foxp3* [14]. У толерогенних ДК, індукованих «Дексаметазоном» (КРКА, д.д., Словенія), спостерігався підвищений рівень експресії гена *ido1*, який формує імунну толерантність через активацію супресорної ланки імунітету [72].

Слід зазначити, що використання клітинної та тканинної терапії у клінічній практиці потребує етапу кріоконсервування біоматеріалу з метою його зберігання і застосування за необхідністю [3, 55].

Застосування аутологічних Трег, сформованих *ex vivo*, є одним з сучасних напрямків імунокорекції АІЗ [23]. Однак інформації щодо кріоконсервування Трег небагато, а результати цих досліджень не завжди однозначні [23].

Важливим є питання, яке пов'язане з кріоконсервуванням та використанням у програмах терапії АІЗ толерогенних ДК. Наприклад, у роботі L. Usero та співавт. [87] продемонстровано більшу чутливість толерогенних ДК до заморожування-відігрівання, ніж мононуклеарів периферичної крові, з яких їх отримують. Така різна кріочутливість може бути обумовлена різним вихідним структурно-функціональним станом цих клітин [3]. Виходячи з цього, деякі дослідники надають перевагу кріоконсервуванню мононуклеарів та подальшій генерації з них *ex vivo* толерогенних ДК [47]. Більш того, отримані з кріоконсервованих мононуклеарів ДК мали підвищений толерогенний потенціал порівняно з нативними ДК і більш ефективними в адоптивній терапії ад'ювантного артрити. Такий феномен може бути результатом підвищення в ДК експресії толерогеніндуцибельних білків теплового шоку з молекулярною масою 70 кДа (Hsp70) та гена *GILZ*. За допомогою кріоконсервування можна регулювати рівень експресії Hsp70 в ДК і збільшувати їх толерогенний потенціал. Такі результати є підґрунтям для створення банків кріоконсервованих ДК з метою лікування АІЗ.

До ампліфікаторів толерогенного потенціалу ДК можна віднести і лейкоконцентрат КК лю-

The use of autologous Tregs formed *ex vivo* is one of the modern directions of immune correction of AIDs [23]. However, there is little information on the cryopreservation of Tregs for use in AIDs therapy, and the results of these studies are not always clear-cut [23].

A principal issue is related to cryopreservation and use of tolerogenic DCs in AIDs therapy programs. For example, in the work of L. Usero *et al.* [87] there was demonstrated higher sensitivity of tolerogenic DCs to freeze-thawing than peripheral blood mononuclear cells from which they are obtained. Such different cryosensitivity may be due to different initial structural and functional state of these cells [3]. Based on this, some researchers prefer cryopreservation of mononuclear cells and subsequent generation of tolerogenic DCs from them *ex vivo* [47]. Moreover, DCs obtained from cryopreserved mononuclear cells had an increased tolerogenic potential compared to native DCs and were more effective in the adoptive therapy of adjuvant arthritis. Such a phenomenon may be the result of an increase in DC expression of tolerogenic heat shock proteins with a molecular weight of 70 kDa (Hsp70) and the *GILZ* gene. With the help of cryopreservation, it is possible to regulate the expression level of Hsp70 in DCs and increase their tolerogenic potential. Such results are the basis for the creation of banks of cryopreserved DCs for clinical use during the treatment of AIDs.

Among the amplifiers of the tolerogenic potential of DCs can be attributed the human cord blood leukoconcentrate (HCBL) [4, 5]. It is known that cord blood is a multi-structural and multifunctional biological system, which, along with protein components of plasma, contains a variety of nucleated cells, in particular stem cells, Treg, *etc.* [5]. The endo- and exoregulatory potential of cord blood is confirmed by the identification of pro- and anti-inflammatory cytokines in it: IL-1 α , β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-10, GM-CSF, IFN α , IFN γ , TNF α , TRF β , *etc.* [99]. For instance, IFN- γ , which is produced by cord blood mesenchymal stem cell, promotes the formation of tolDCs with an increased level of IDO expression and an increase in the Treg population [12], and IL-10 *ex vivo* can promote the formation of DCs with an immature phenotype and resistance to maturation stimuli [41]. However, it remains relevant to determine in experimental studies the effect of cold on the ability of cell and humoral components of CB to form highly functional tolerogenic DCs and Tregs with the aim of their further use in clinical practice during the treatment of AIDs.



дини (ЛККЛ) [4, 5]. Відомо, що КК є багато-структурною і поліфункціональною біологічною системою, у якій поряд з білковими складовими плазми містяться різноманітні ядровмісні клітини, зокрема стовбурові клітини, Трег тощо [5]. Ендо- і екзорегуляторний потенціал КК підтверджується ідентифікацією в ній про- і протизапальних цитокінів: ІЛ-1 α , β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-12, ІЛ-10, гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулюючий фактор (ГМ-КСФ), інтерферон- α (ІФН α), ІФН γ , ФНП α , ТРФ β тощо [99]. Наприклад, ІФН- γ , який продукують мезенхімальні стовбурові клітини КК, сприяє утворенню толДК із підвищеним рівнем експресії ІДО і збільшенням популяції Трег [12], а ІЛ-10 *ex vivo* може сприяти формуванню ДК з незрілим фенотипом і стійкістю до стимулів дозрівання [41]. Втім залишається актуальним визначення в експериментальних дослідженнях кровопливу на здатність клітинних і гуморальних компонентів КК формувати високофункціональні толерогенні ДК і Трег з метою подальшого їх використання в клінічній практиці для лікування АІЗ.

Роль стресу в етіопатогенезі захворювань репродуктивної системи чоловіків. Найбільш чутливими до стресу є системи НІЕБ [82], якому підпорядковано функціонування репродуктивної системи [15]. В умовах воєнного стану акцент такого впливу зміщується у бік репродуктивної системи чоловіків. Е. Carlsen та співавт. [15] наголошували, що стрес викликає зниження секреції гонадотропних гормонів, яке призводить до пригнічення функції статевих залоз. Дійсно, зниження якості чоловічої сперми в умовах стресорного навантаження є незаперечним фактом.

Ключем до порозуміння впливу стресу на чоловічу репродуктивну функцію є симпатoadrenalova та гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникові системи, які, за даними J.N. Flak та співавт. [19] відповідають за реалізацію стресових реакцій. Суттєво, що хронічний стрес може гальмувати синтез тестостерону та підвищувати апоптоз клітин Лейдига, обумовлюючи дисфункцію системи рецепторів, пов'язаних з G-білком, та пошкодження гематотестикулярного бар'єра [21]. Це узгоджується з даними A.L. Juarez-Rojas та співавт. [36], які індукували стрес у щурів зануренням у холодну воду і підтвердили активацію шляхів апоптозу у клітинах сім'яників, що призводить до зниження рівня тестостерону.

В умовах стресу первинні зміни у симпатoadrenalovій системі викликають порушення ней-

Role of stress in etiopathogenesis of male reproductive system diseases. The most sensitive to stress are the NIEB systems [82], subordinated to the functioning of the reproductive system [15]. In military operations the emphasis of such influence shifts towards the reproductive system of men. E. Carlsen *et al.* [15] emphasized that stress causes a decrease in the secretion of gonadotropic hormones, which leads to suppression of the function of the gonads. Indeed, it is an indisputable fact that the quality of male sperm decreases in stressful conditions.

The key to understanding the impact of stress on male reproductive function is the sympathoadrenal and hypothalamic-pituitary-adrenal systems, which, according to J.N. Flak *et al.* [19] are responsible for the implementation of stress reactions. Significantly, chronic stress can inhibit testosterone synthesis and increase apoptosis of Leydig cells, leading to dysfunction of the G-protein-coupled receptor system and damage to the blood-testicular barrier [21]. This is consistent with the data of A.L. Juarez-Rojas *et al.* [36], who induced stress in rats by immersion in cold water and confirmed the activation of apoptosis pathways in testicular cells, which leads to a decrease in testosterone levels.

Under stress, primary changes in the sympathoadrenal system cause alterations in the neurohumoral regulation of reproductive function. Most hormones, neurotransmitters and biogenic amines mediate the inhibitory effect of long-term and short-term stress on sexual function, acting at the brain level. In particular, adrenaline inhibits the secretion of gonadotropic hormones, mediated through the hypothalamus. Suppression of the secretion of gonadotropins plays a significant role in the mechanism of inhibition of the activity of the spermatogenic epithelium by androgens [78].

The response to a short-term stress in men is the release of testosterone, but chronic emotional exhaustion significantly decreases its level, which reduces sperm production, causes erectile dysfunction, which led to impotence. The results of the work of H. Lin *et al.* are important. [51], who showed that immobilization stress induced suppression of the expression of testosterone synthesis genes, which was accompanied by a significant decrease in its level in blood plasma.

It was found that 'dexamethasone-loaded' rats had 10 times more apoptotic germ cells than control animals [96]. Glucocorticoid receptor-mediated apoptosis and inhibition of testosterone synthesis in Leydig cells are considered to be the main mechanisms of stress-induced impairment of spermatogenesis.



рогуморальної регуляції репродуктивної функції. Більшість гормонів, нейромедіаторів і біогенних амінів опосередковують інгібуючу дію тривалого та короточасного стресу на статеву функцію, діючи на рівні мозку. Зокрема, адреналін гальмує секрецію гонадотропних гормонів, опосередковану через гіпоталамус. Пригнічення секреції гонадотропнів відіграє істотну роль у механізмі інгібіції активності сперматогенного епітелію андрогенами [78].

Реакцією на короточасний стрес у чоловіків є викид тестостерону, але хронізація емоційного виснаження суттєво зменшує його рівень, що знижує вироблення сперми, спричиняє еректильну дисфункцію, що призводить до імпотенції. Важливими є результати роботи Н. Lin та співавторів [51], які показали, що іммобілізаційний стрес індукуює пригнічення експресії генів синтезу тестостерону, що супроводжується значним зниженням його рівня у плазмі крові.

Встановлено, що у щурів з «дексаметазоновим навантаженням» було у 10 разів більше апоптотичних герменальних клітин, ніж у тварин контрольної групи [96]. Опосередкований глюкокортикоїдними рецепторами апоптоз та інгібіція синтезу тестостерону в клітинах Лейдига вважаються основними механізмами стрес-індукованого порушення сперматогенезу. Концентрація тестостерону може знижуватися у чоловіків під час стресового навантаження, обумовленого воєнним станом або безпосередньою участю у бойових діях [63].

Стрес-індуковані порушення сперматогенезу пов'язують також з перевищенням концентрації пролактину і зміною біосинтезу андрогенів шляхом гальмування перетворення тестостерону на його активну форму — 5 α -дигідротестостерон. Це призводить до зниження біологічної активності андрогенів. Крім того, пролактин блокує дію гонадотропнів на статеві залози [45]. Стресорні стани високої інтенсивності здатні зовсім зупинити сперматогенез, про що свідчать клінічні результати, а саме, біопсія яєчок чоловіків, які перебували в таких умовах. Клітини Сертолі та сперматогонії є єдиними типами клітин, що залишалися у сім'яних каналцях чоловіків при психоемоційних навантаженнях [58].

Вплив імунної системи на репродуктивну систему чоловіків в умовах стресу. Стресорні фактори можуть чинити опосередкований вплив на статеві клітини шляхом пригнічення загального чи локального імунітету і збільшення ризику інфекційного ураження статевої системи. Враховуючи важливу роль імунних реакцій у фор-

The concentration of testosterone can decrease in men during stressful situations caused by martial law or direct participation in hostilities [63].

Stress-induced disorders of spermatogenesis are also associated with an increased concentration of prolactin and a change in the biosynthesis of androgens by inhibiting the conversion of testosterone to its active form — 5 α -dihydrotestosterone. This leads to a decrease in the biological activity of androgens. In addition, prolactin blocks the action of gonadotropins on the gonads [45]. Stressful conditions of high intensity can completely stop spermatogenesis, as evidenced by clinical results, namely, testicular biopsies of men who were in such conditions. Sertoli cells and spermatogonia are the only cell types that remained in the seminiferous tubules of men during psychoemotional stress [58].

The influence of the immune system on the reproductive system in men under conditions of stress. Stress factors can have an indirect effect on germ cells by suppressing general or local immunity and increasing the risk of infectious damage to the reproductive system. This principal role of immune responses in the formation and functioning of the human reproductive system, a change in immune homeostasis can disrupt the normal reproductive process and cause infertility in men. Attention is drawn to the possibility of spermatogenesis disorders against the background of systemic AIDs induced by the stress factor of war events, which persist for many years and are even transmitted to offspring [70]. It is known that military personnel who participated in hostilities have the disordered regulatory functions, primarily in the autonomic nervous system, and increased secretion of stress-releasing substances [9]. Such a stress-induced state in military personnel persists for a long time after returning to everyday life. In addition, gunshot (mechanical) injuries of the scrotum deserve special attention. It is known that testicular tissue is beyond the limit of immune recognition. Traumatic violation of this barrier is accompanied by the entry of sperm immunogenic epitopes into the bloodstream and the development of an autoimmune reaction with the production of antisperm antibodies (ASAT). The presence of blocking and destructive ASAT in the blood or fluids of the reproductive tract is one of the main immune factors that lead to impaired fertilization [17]. In addition, ASATs can interfere with the interaction of gametes by blocking surface receptors. Immune infertility in men, in particular induced by stressful and traumatic triggers, is the result of the combined effect of various types of ASAT, reducing the ability of spermatozoa to move



муванні і функціонуванні репродуктивної системи людини, зміна імунного гомеостазу може порушити нормальний репродуктивний процес і викликати безпліддя у чоловіків. Звертається увага на можливість виникнення порушень сперматогенезу на фоні системних АІЗ, індукованих стресорним фактором воєнних подій, які зберігаються протягом багатьох років і навіть передаються нащадкам [70]. Відомо, що у військових, які брали участь у бойових діях, є порушення регуляторних функцій, перш за все, у вегетативній нервовій системі та посилена секреція стрес-релізінг речовин [9]. Такий стрес-індукований стан у військових зберігається протягом довгого часу після повернення до повсякденного життя. Окрім того, особливої уваги заслуговують вогнепальні (механічні) поранення мошонки. Відомо, що тестикулярна тканина знаходиться поза межою імунного розпізнавання. Травматичне порушення цього бар'єра супроводжується потраплянням спермальних імуногенних епітопів у кровотік і розвитком аутоімунної реакції з виробленням антиспермальних антитіл (АСАТ). Наявність блокуючих і руйнівних АСАТ у крові або рідинах репродуктивного тракту є одним з основних імунних факторів, що призводять до порушення запліднення [17]. Крім того, АСАТ можуть перешкоджати взаємодії гамет через блокування поверхневих рецепторів. Імунне безпліддя чоловіків, зокрема індуковане стресорними і травматичними тригерами, є наслідком комбінованої дії різних видів АСАТ, які знижують здатність сперматозоїдів пересуватися в цервікальному слизові й пенітрувати яйцеклітину [10].

Основні підходи до лікування дисфункції репродуктивної системи чоловіків. Пошук підходів до збереження генофонду та репродуктивного здоров'я української нації є актуальним у мирний і, особливо, воєнний час. Суттєвим внеском у вирішення цієї важливої проблеми можуть бути розробки установ Національної академії наук України, зокрема ІПКіК НАН України.

Суттєвою складовою загальноприйнятої терапії лікування безпліддя чоловіків є використання кріоконсервованих репродуктивних тканин і клітин. З метою збереження фертильності чоловіків проводять кріоконсервування сперми/сперматозоїдів, а у випадках, коли неможливо отримати гамети (препубертатний вік хлопчиків), використовують низькотемпературне консервування біоптатів звитих каналців яєчка [88]. У багатьох клініках впроваджено роботу кріобанків клітин і тканин сім'яників хлопчиків препубертатного віку, хворих на рак [42]. По-

through the cervical mucus and penetrate the egg [10].

Basic approaches to the treatment of male reproductive system dysfunction. The search for approaches to the preservation of the gene pool and reproductive health of the Ukrainian nation is relevant in peacetime and, especially, in wartime. Developments of the institutions of the National Academy of Sciences of Ukraine, in particular IPC&C of the NAS of Ukraine, can significantly contribute to solving this important task.

An essential component of the generally accepted therapy for the treatment of male infertility is the use of cryopreserved reproductive tissues and cells. In order to preserve male fertility, the sperm/spermatozoa cryopreservation is performed, and in cases where it is impossible to obtain gametes (prepubescent boys), low-temperature preservation of convoluted tubule biopsies is used [88]. In many clinics, the cryobanks of testicular cells and tissues of prepubescent boys with cancer have been established [42]. The positive results of developments in this direction are inextricably linked to the development of cryobiological approaches and technologies, taking into account the possibility of almost indefinite storage of biological objects for future medical procedures. Indeed, cryopreservation has become an essential component of the medical use of cell and tissue therapy products [88].

Thus, various biotechnological approaches developed in experimental model systems can be used to reproduce the reproductive cells of men, in particular those under wartime conditions. Cultivation of spermatogonial cells *in vitro* provides an opportunity for manipulation of the paracrine environment, and also helps to study the individual influence of each growth factor on spermatogenesis [22].

Cryopreservation of germ cells and tissues. The currently mastered methods of cryopreservation of male reproductive cells allow solving important not only medical, but also social problems. The most relevant issue is the rehabilitation of the reproductive function of men who have suffered PTSD (as well as mechanical injuries of reproductive tissues) on the battlefield or among the civilian population. This applies to men whose work is related to the harmful effects of the environment on the reproductive system (nuclear power plants, etc.), as well as to cancer patients receiving radiation and chemotherapy [85]. Cryopreservation is a necessary procedure before a diagnostic testicular biopsy. Indications for cryopreservation of germ



зитивні результати розробок у цьому напрямку нерозривно пов'язані з розвитком кріобіологічних підходів і технологій, враховуючи можливість майже безстрокового зберігання біооб'єктів для майбутніх медичних процедур. Дійсно, кріоконсервування стало обов'язковим компонентом медичного використання продуктів клітинної та тканинної терапії [88].

Так, для відтворення репродуктивних клітин чоловіків, зокрема тих, які перебували в умовах воєнних дій, можуть застосовуватися різноманітні біотехнологічні підходи, відпрацьовані на експериментальних модельних системах. Культивування сперматогоніальних клітин *in vitro* дають можливість для маніпуляцій паракринним середовищем, а також допомагають вивчити індивідуальний вплив кожного фактора росту на процеси сперматогенезу [22].

Кріоконсервування статевих клітин і тканин. Опановані на теперішній час методи кріоконсервування статевих клітин чоловіків дозволяють вирішити важливі не тільки медичні, але і соціальні проблеми. Найактуальнішим є питання реабілітації дітородної функції чоловіків, що перенесли ПТСПР (як і механічні враження репродуктивних тканин) на полі бою чи серед цивільного населення. Це стосується чоловіків, робота яких пов'язана зі шкідливим впливом навколишнього середовища на репродуктивну систему (атомні електростанції тощо), а також онкохворих, яким застосовують променеви та хіміотерапію [85]. Кріоконсервування є необхідною процедурою перед проведенням діагностичної біопсії яєчка. Показаннями до кріоконсервування статевих клітин є проведення штучної інсемінації, за якої у випадках оліго-, астено- та тератозооспермії необхідно проводити накопичення сперматозоїдів. Після відігріву еякулятів фракція активнорухливих клітин виділяється з усіх накопичених зразків, що дозволяє збільшити їх кількість у дозі, яку використовують для штучної інсемінації [97]. Використання кріотехнологій у репродуктивній медицині обумовлене не тільки за медичними, але й за соціальними показниками (наприклад, коли за умов свідомого вибору подружжя пара відкладає зачаття і виношування дитини на більш пізній репродуктивний період).

При кріоконсервуванні тестикулярної тканини використовують два підходи: біоптат яєчка може бути заморожений у вигляді суспензії сперматогоніальних клітин або як фрагменти звитих сім'яних каналців. Після розморожування суспензії клітин можлива її аутотрансплантація

cells are artificial insemination, during which in cases of oligo-, astheno- and teratozoospermia it is necessary to accumulate spermatozoa. After warming of ejaculates, the fraction of actively motile cells is separated from all accumulated samples, which allows to increase their number in the dose used for artificial insemination [97]. The use of cryotechniques in reproductive medicine is determined not only by medical, but also by social indications (for example, when, under conscious choice, a married couple postpones the conception and bearing of a child for a later reproductive period).

Two approaches are used for cryopreservation of testicular tissue: the testicular biopsy can be frozen as a suspension of spermatogonial cells or as fragments of convoluted seminiferous tubules. After thawing the cell suspension, its autotransplantation is possible by injecting a healthy population of spermatogonial cells into the testicular tissue to populate the convoluted tubules [80]. In the case of cryopreservation of the convoluted tubules, after their thawing, it is possible to transplant the biopsy to initiate spermatogenesis. In the future, spermatozoa obtained in this way can be used for fertilization by means of intracytoplasmic injection of spermatozoa into the oocyte [34].

Spermatogonial stem cells (SSCs) are found in male testicles from birth, but they are not capable of producing mature spermatozoa until puberty. The development and optimization of testicular cell culture and cryopreservation protocols to ensure high indices of functional completeness ensures its more profitable use for the restoration of male fertility, the therapy of hormonal dysfunction and erectile disorders [94].

Today, transplantation of autologous cryopreserved SSCs and accessory regulatory cells is one of the most promising methods of restoring patients' fertility. The development of such modern biotechnology, which allows to create reserves and store autologous SSCs and accessory regulatory cells of testes under conditions of ultra-low temperatures, is carried out at the Department of Cryopathophysiology and Immunology of the IPC&C [91]. The introduction of autologous fibrin gel into the cryoprotective media makes it possible to abandon the use of xenogenic serum, reduce the concentration of the cryoprotectant, and shorten the duration of freezing. This approach ensures the morphofunctional state of SSCs and accessory-regulatory cells of testes at a qualitatively high level [91].

However, despite the high rate of investigations in this field, the isolation and cryopreservation of testicular SSCs remains imperfect and non-



шляхом ін'єкції у тканину сім'яників здорової популяції сперматогоніальних клітин для заселення звитих каналців [80]. У разі кріоконсервування звитих каналців після їх розморожування можливе проведення трансплантації біоптату для ініціації сперматогенезу. Отримані таким чином сперматозоїди в перспективі можуть бути використані для запліднення за допомогою інтрацитоплазматичної ін'єкції сперматозоїда в ооцит [34].

Сперматогоніальні стовбурові клітини (ССК) присутні в сім'яниках чоловіка вже від народження, але вони не здатні продукувати зрілі сперматозоїди до статевої зрілості. Розробка та оптимізація протоколів культивування та кріоконсервування клітин яєчка з метою забезпечення високих показників функціональної повноцінності забезпечує більш вигодозне його використання для відновлення фертильності у чоловіків, терапії гормональної дисфункції та еректильних розладів [94].

На сьогодні трансплантація аутологічних кріоконсервованих ССК та акцесорно-регуляторних клітин є одним з найперспективніших методів відновлення фертильності пацієнтів. Саме розробка такої сучасної біотехнології, яка дозволяє створити запаси і зберігати за умов ультранизьких температур аутологічні ССК та акцесорно-регуляторні клітини сім'яників, проводиться у відділі кріопатофізіології і імунології ІПКіК [91]. Введення аутологічного фібринового гелю в кріозахисне середовище дозволяє відмовитися від застосування ксеногенної сироватки, знизити концентрацію кріопротектора та скоротити тривалість процесу заморожування. Такий підхід дозволив забезпечити морфофункціональний стан ССК та акцесорно-регуляторних клітин сім'яників на якісно високому рівні [91].

Однак, незважаючи на високі темпи досліджень у цій галузі, залишається недосконалим та нестандартизованим метод виділення і кріоконсервування ССК яєчок. Протоколи оцінки біологічних властивостей ССК і способів відновлення фертильності потребують більш прискіпливої стандартизації. Виходячи з вимог клінічної практики, зараз можуть бути застосовані декілька протоколів використання кріопротекторів ендота екзоцелюлярного типів або їх комбінацій. Дослідження А.М. Гольцева та співавт. [3, 26, 47, 88] показали, що ДМСО, гліцерин, етиленгліколь, поліетиленгліколь, трегалоза є ефективними протекторами для кріоконсервування клітин і тканин, але їхня ефективність відрізняється для різних клітинних популяцій. Раніше було

standardized. Protocols for assessing the biological properties of SSCs and methods of fertility restoration need more meticulous standardization. Based on the requirements of clinical practice, several protocols for the use of endo- and exocellular cryoprotectants or their combinations can now be applied. Research by A.M. Goltsev *et al.* [3, 26, 47, 88] showed that DMSO, glycerol, ethylene glycol, polyethylene glycol, trehalose were effective protectors for cryopreservation of cells and tissues, but their effectiveness differed for various cell populations. It was previously shown that DMSO, due to its low molecular weight, quickly penetrated into cells and was able to minimize cryodamage of human SSCs [42]. The analysis of studies demonstrated that the use of a classic combination of 10% DMSO and fetal bovine serum in a concentration from 5 to 90% allowed the preservation of the viability of about 55–65% of cells after freezing [50]. At the same time, the toxic effect of DMSO is known.

Therefore, the development of approaches aimed at reducing DMSO concentrations and the search for an alternative to fetal serum are urgent tasks of cryobiotechnology.

Natural polymers based on collagen, gelatin and fibrin proteins are known to be characterized by high biocompatibility and bioactivity. There is a parallel interest in these gels in cryobiological research. The main factor leading to the death of cells at the stages of cryopreservation is a disorder of the pro- and antioxidant balance, which increases oxidative stress and induces apoptosis. The activation of these processes depends on the composition of the medium with cryoprotective properties. It is believed that biopolymer gels in the composition of such media contribute to the stabilization of membranes, ensuring high viability and metabolic activity of cells subjected to cryopreservation [53].

The effectiveness of low-temperature preservation of cells, in particular SSCs, with the help of gels is determined not only by the integrity of their membranes, but also by the level of viability and functional activity, which is significantly influenced by changes in the physical and mechanical properties of the carrier under freezing-warming [90].

The most stringent criterion for the functional capacity of the SSCs is the restoration of fertility. Even if the results of histological evaluation of spermatogenesis are positive, not necessarily after transplantation, SSCs will be functionally active. To date, there is a small amount of research related to the restoration of fertility, that may be due to the complexity and low efficiency of the spermatogonia transplantation technique.



показано, що ДМСО за рахунок низької молекулярної маси швидко проникає у клітини і здатний мінімізувати кріопшкодження ССК людини [42]. Аналіз досліджень показав, що використання класичної комбінації 10% ДМСО і фетальної бичачої сироватки в концентрації від 5 до 90% дозволяє зберегти життєздатність близько 55–65% клітин після заморожування [50]. При цьому відомо про токсичний ефект ДМСО.

Отже, розробка підходів, спрямованих на зниження концентрацій ДМСО, та пошук альтернативи фетальній сироватці є актуальними завданнями кріобіотехнології.

Відомо, що природні полімери на основі білків колагену, желатину та фібрину характеризуються високою біосумісністю та біоактивністю. У кріобіологічних дослідженнях існує паралельний інтерес до цих гелів. Відомо, що одним з основних факторів, який призводить до загибелі клітин на етапах кріоконсервування, є порушення про- та антиоксидантного балансу, що посилює окиснювальний стрес та індукує апоптоз. Активація цих процесів залежить від складу середовища з кріопротекторними властивостями. Вважається, що біополімерні гелі у складі таких середовищ сприяють стабілізації мембран, забезпечуючи високу життєздатність і метаболічну активність клітин, які підлягають кріоконсервуванню [53].

Ефективність низькотемпературного консервування клітин, зокрема ССК, за допомогою гелів визначається не лише цілісністю їх мембран, а й рівнем життєздатності та функціональної активності, на який мають суттєвий вплив зміни фізико-механічних властивостей носія за умов заморожування-відігрівання [90].

Найбільш суворим критерієм функціональної здатності ССК є відновлення фертильності. Навіть за умов позитивних результатів гістологічної оцінки сперматогенезу, не обов'язково після трансплантації, ССК будуть функціонально активні. На сьогодні існує незначна кількість досліджень, пов'язаних із відновленням фертильності, що можливо обумовлено складністю та низькою ефективністю техніки трансплантації сперматогоній.

В останні роки саме ін'єкція суспензії ССК вважається найбільш перспективним шляхом відновлення фертильності після гонадотоксичної терапії. Вперше цей метод був описаний R. L. Brinster і J. W. Zimmermann [13] та успішно застосований для інфузії ССК від статевонезрілих донорів у яєчка стерильних реципієнтів з метою відновлення їхнього сперматогенезу. Спочатку ССК ізолюють з біоптатів, після чого

Recently it is the injection of SSC suspension that is considered the most promising way to restore fertility after gonadotoxic therapy. This method was first described by R.L. Brinster and J.W. Zimmermann [13] and was successfully used for the infusion of SSCs from sexually immature donors into the testicles of sterile recipients to restore their spermatogenesis. First, SSCs were isolated from biopsies, after which they were transplanted in the amount needed for effective colonization of the testis and restoration of spermatogenesis [75].

Restoration of male fertility is a complex and multi-stage process, the success of which depends on the perfection of applied approaches and methods at each stage. The repair of this system after PTSD deserves special attention, and even more so, in combination with mechanical damage to the testicles. That is why scientists all over the world are working on the study and improvement of protocols for isolation, cryopreservation, cultivation and transplantation of testicular SSCs. For cryopreservation and low-temperature storage of testicular tissues, along with the use of slow cooling rates, the vitrification (use of high concentrations of cryoprotectants and ultra-fast cooling) is used [89]. Thus, cryopreservation allows the keeping of male reproductive cells for a long time in a functionally capable state, that makes this technology attractive and vital, as well as a mandatory component of regenerative medicine during the treatment of infertility by assisted reproductive technologies.

Conclusion

Thus, a detailed analysis of the published data demonstrated that the human body being under chronic stress also underwent the development of oncological, autoimmune diseases and dysfunction of the reproductive system. Today, the need to find effective treatments for these pathologies in military servicepersons and civilians using cryobiological and cryomedical techniques is extremely important. Cryopreservation is shown to be a tool for managing the structure and functions of various cells, in particular, immune DCs for clinical use in oncology. It remains an urgent task to determine the influence of cryopreservation factors on the ability of cell and humoral components of CB to form highly functional tolerogenic DCs and Tregs with the aim of their further use in clinical practice to treat the AIDs. Cryopreservation enables the preservation of male reproductive cells for a long time in a functionally capable state, making this technique important, and making it also a mandatory component of regenerative medicine during infertility



трансплантують у необхідній дозі для ефектної колонізації яєчка та відновлення сперматогенезу [75].

Відновлення фертильності чоловіків — складний та багатадійний процес, успіх якого залежить від досконалості застосованих підходів і методів на кожному етапі. Особливої уваги заслуговує репарація цієї системи після ПТСР, а тим паче, в комбінації з механічними ушкодженнями яєчок. Саме тому науковці в усьому світі працюють над вивченням та удосконаленням протоколів виділення, кріоконсервування, культивування і трансплантації ССК сім'яників. Для кріоконсервування і низькотемпературного зберігання тканин сім'яників поряд із застосуванням повільних швидкостей охолодження впроваджується метод вітрифікації (застосування високих концентрацій кріопротекторів і надшвидкого охолодження) [89]. Отже, кріоконсервування дозволяє зберігати чоловічі репродуктивні клітини протягом тривалого часу у функціонально здатному стані, що надає цій технології привабливості та вагомості, а також є обов'язковою складовою регенеративної медицини у лікуванні безпліддя методами допоміжних репродуктивних технологій.

Висновок

Таким чином, на підставі детального аналізу даних літератури доведено, що перебування організму людини в стані хронічного стресу супроводжується розвитком онкологічних, аутоімунних захворювань та дисфункцією репродуктивної системи. Сьогодні необхідність пошуку ефективних методів лікування цих патологій у військових і цивільних із застосуванням кріобіологічних і кріомедичних технологій є надзвичайно важливою. Показано, що кріоконсервування може бути інструментом управління структурно-функціональним станом різних клітин, зокрема імунних ДК для клінічного застосування в онкотерапії. Залишається актуальним завданням визначення впливу факторів кріоконсервування на здатність клітинних і гуморальних компонентів КК формувати високофункціональні толерогенні ДК і Трег з метою подальшого їх використання в клінічній практиці під час лікування АІЗ. Кріоконсервування дозволяє зберігати чоловічі репродуктивні клітини протягом тривалого часу у функціонально здатному стані, що надає цій технології вагомості, а також є обов'язковою складовою регенеративної медицини у лікуванні безпліддя. Представлені дані є запорукою подальшого клінічного використання оригінальних кріобіологічних і кріомедичних клітинно-тканинних технологій.

treatment. The presented data provide an evidence of expediency of further clinical use of original cryobiological and cryomedical cell-tissue techniques.

References

1. Aikins ME, Xu C, Moon JJ. Engineered nanoparticles for cancer vaccination and immunotherapy. *Acc Chem Res.* 2020; 53(10): 2094–105.
2. Argentieri MA, Nagarajan S, Seddighzadeh B, et al. Epigenetic pathways in human disease: the impact of DNA methylation on stress-related pathogenesis and current challenges in biomarker development. *EBioMedicine.* 2017; 18: 327–50.
3. Bae YS, Shin EC, Bae YS, Van Eden W. Stress and immunity. *Front Immunol.* [Internet]. 2019 Feb 14 [Cited 1.12.2022]; 10: 245. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00245/full>
4. Barbonetti A, Castellini C, D'Andrea S, et al. Prevalence of anti-sperm antibodies and relationship of degree of sperm auto-immunization to semen parameters and post-coital test outcome: a retrospective analysis of over 10 000 men. *Hum Reprod.* 2019; 34(5): 834–41.
5. Bellone M. Autoimmune Disease: Pathogenesis. *Encyclopedia of Life Sciences* [Internet]. 2015 Sep 14. [Cited 01.12.2022] Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0001276.pub4>
6. Berglund S, Magalhaes I, Gaballa A, et al. Advances in umbilical cord blood cell therapy: the present and the future. *Expert Opin Biol Ther.* 2017; 17(6): 691–9.
7. Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91(24): 11298–302.
8. Cannarile L, Delfino DV, Adorisio S, et al. Implicating the role of GILZ in glucocorticoid modulation of T-cell activation. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Aug 7 [Cited 9.12.2021]; 10:1823. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.01823/full>
9. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ.* 1992; 305(6854): 609–13.
10. Chang H, Chew SWT, Zheng M, et al. Cryomicroneedles for transdermal cell delivery. *Nat Biomed Eng.* 2021; 5(9): 1008–18.
11. Dhama K, Chakraborty S, Abdul Samad, et al. Role of antisperm antibodies in infertility, pregnancy, and potential for contraceptive and antifertility vaccine designs: research progress and pioneering vision. *Vaccines.* 2019; 7(3): 1–31.
12. Erdmann M, Schuler-Thurner B. Dendritic cell vaccines in metastasized malignant melanoma. *G Ital Dermatol Venereol.* 2008; 143(4): 235–50.
13. Flak JN, Patterson CM, Garfield AS, et al. Leptin-inhibited PBN neurons enhance responses to hypoglycemia in negative energy balance. *Nat Neurosci.* 2014; 17(12): 1744–50.
14. Flevaris K, Kontoravdi C. Immunoglobulin G N-glycan biomarkers for autoimmune diseases: current state and a glycoinformatics perspective. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 May 6 [Cited 1.09.2022]; 23(9): 5180. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9100869/>



Література

1. Гольцев АН, Бабенко НН, Гаевская ЮА, и др. Способность наночастиц на основе ортованадатов к идентификации *in vitro* и инактивации *in vivo* стволовых раковых клеток. Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. 2013; 11(4): 729–39.
2. Гольцев АМ, Дубрава ТГ, Луценко ОД, та ін. Молекулярні механізми імунорегуляторної дії препаратів фетоплацентарного комплексу в умовах розвитку автоімунних захворювань. Одеський медичний журнал. 2013; (4):13–8.
3. Гольцев АН, Останкова ЛВ, Дубрава ТГ и др. Криоконсервирование как фактор модификации структурно-функционального состояния и механизма реализации лечебного эффекта клеток стволового компартамента в условиях развития патологий аутоиммунного генеза. В: Гольцев АН, редактор. Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины. Харьков: ИПКиК НАНУ; 2012. с. 501–612.
4. Гольцев АМ, Фуллер БДж, Бондарович МО, та ін. COVID-19 – потенційна мішень для криобіології та криомедицини. Проблеми криобіології і криомедицини. 2020; 30(2): 107–31.
5. Коваль АК, Луценко ЕД, Гриша ИГ, и др. Влияние лиофилизации на сохранность структурно-функциональных характеристик лейкоконцентрата кордовой крови человека. Проблеми криобіології і криомедицини. 2019; 29 (4): 333–43.
6. Малюкін ЮВ. Новітні люмінесцентні наноматериали: фундаментальні властивості, біомедичні та технічні застосування. Вісник НАН України. 2017; (12): 28–34.
7. Aikins ME, Xu C, Moon JJ. Engineered nanoparticles for cancer vaccination and immunotherapy. Acc Chem Res. 2020; 53(10): 2094–05.
8. Argentieri MA, Nagarajan S, Seddighzadeh B, et al. Epigenetic pathways in human disease: the impact of DNA methylation on stress-related pathogenesis and current challenges in biomarker development. EBioMedicine. 2017; 18: 327–50.
9. Bae YS, Shin EC, Bae YS, Van Eden W. Stress and immunity. Front Immunol. [Internet]. 2019 Feb 14 [Cited 1.12.2022]; 10: 245. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00245/full>
10. Barbonetti A, Castellini C, D'Andrea S, et al. Prevalence of anti-sperm antibodies and relationship of degree of sperm auto-immunization to semen parameters and post-coital test outcome: a retrospective analysis of over 10 000 men. Hum Reprod. 2019; 34(5): 834–41.
11. Bellone M. Autoimmune Disease: Pathogenesis. Encyclopedia of Life Sciences [Internet]. 2015 Sep 14. [Cited 01.12.2022] Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0001276.pub4>
12. Berglund S, Magalhaes I, Gaballa A, et al. Advances in umbilical cord blood cell therapy: the present and the future. Expert Opin Biol Ther. 2017; 17(6): 691–9.
13. Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1994; 91(24): 11298–302.
14. Cannarile L, Delfino DV, Adorisio S, et al. Implicating the role of GILZ in glucocorticoid modulation of T-cell activation. Front Immunol [Internet]. 2019 Aug 7 [Cited 9.12.2021]; 10:1823. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.01823/full>
15. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. British medical journal. 1992; 305(6854): 609–13.
16. Chang H, Chew SWT, Zheng M, et al. Cryomicroneedles for transdermal cell delivery. Nat Biomed Eng. 2021; 5(9): 1008–18.
17. Dhama K, Chakraborty S, Abdul Samad, et al. Role of antisperm antibodies in infertility, pregnancy, and potential for contraceptive and antifertility vaccine designs: Research progress and pioneering vision. Vaccines. 2019; 7(3): 1–31.
18. Gacci M, Coppi M, Baldi E, et al. Semen impairment and occurrence of SARS-CoV-2 virus in semen after recovery from COVID-19. Hum Reprod. 2021; 36(6): 1520–9.
19. Gohbara A, Katagiri K, Sato T, et al. In vitro murine spermatogenesis in an organ culture system. Biol Reprod. 2010; 83(2): 261–7.
20. Gołab K, Grose R, Placencia V, et al. Cell banking for regulatory T cell-based therapy: strategies to overcome the impact of cryopreservation on the Treg viability and phenotype. Oncotarget. 2018; 9(11): 9728–40.
21. Goltsev AN, Ostankova LV, Dubrava TG, et al. [Cryopreservation as the factor of modification of structural and functional state and the realization mechanism of therapeutic effect of compartment stem cells under autoimmune genesis pathology development]. In Goltsev AN, editor [Current problems of cryobiology and cryomedicine]. Kharkiv; 2012. p. 501–612. Russian.
22. Goltsev AM, Babenko NM, Gaevska YuO, et al. Change of expression of tumor cell pluripotency genes after cryopreservation. Cryobiology. 2020; 97: 289.
23. Goltsev A, Babenko N, Gaevska Yu, et al. Toxicity of nanocomplexes containing gadolinium orthovanadate nanoparticles and cholesterol. Biol Trace Elem Res. 2022; 200(10): 4339–54.
24. Goltsev AN, Babenko NN, Gaevskaya YuA, et al. [Capability of orthovanadate-based nanoparticles to *in vitro* identification and *in vivo* inhibition of cancer stem cells]. Nanosystems, nanomaterials, nanotechnologies; 2013; 11 (4): 729–39. Russian.
25. Goltsev AM, Bondarovich MO, Babenko NM, et al. Effect of different cryopreservation regimens on Ehrlich carcinoma growth. Cell Tissue Bank. 2019; 20(3): 411–21.
26. Goltsev AN, Dubrava TG, Lutsenko OD, et al. [Molecular mechanisms of immune correcting effect of cell therapy under development of autoimmune diseases]. Odesa Medical Journal. 2013; (4):13–8. Ukrainian.
27. Goltsev A, Fuller B, Bondarovich M, et al. COVID-19 as a potential target for cryobiology and cryomedicine. Probl Cryobiol Cryomed. 2020; 30(2): 107–31.
28. Goltsev AM, Babenko NM, Gaevska YuO, et al. Proliferative activity of Ehrlich carcinoma cells after use of nanocomplexes. In: Fesenko O, Yatsenko, editors. Nanooptics and photonics, nanochemistry and nanobiotechnology, and their applications. Springer Proceedings in Physics. Springer Cham; 2023. p. 223–42.
29. Hayden H, Friedl J, Dettke M, et al. Cryopreservation of monocytes is superior to cryopreservation of immature or semi-mature dendritic cells for dendritic cell-based immunotherapy. J Immunother. 2009; 32(6): 638–54.
30. Hazra A, Bose P, Sunita P, Pattanayak SP. Molecular epigenetic dynamics in breast carcinogenesis. Arch Pharm Res. 2021; 44(8): 741–63.
31. Hernández SS, Jakobsen MR, Bak RO. Plasmacytoid dendritic cells as a novel cell-based cancer immunotherapy. Int J Mol Sci [Internet]. 2022 Sep 27 [Cited 1.12.2022]; 23(19): 11397. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/19/11397>
32. Iranzo J, Martincorena I, Koonin EV. Cancer-mutation network and the number and specificity of driver mutations. Proc Natl Acad Sci USA. [Internet]. 2018 Jun 26 [Cited 1.12.2022]; 115(26): E6010–E6019. Available from: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1803155115>
33. Isaacs JD. Therapeutic agents for patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to tumour necrosis factor-alpha antagonists. Expert Opin Biol Ther. 2009; 9: 1463–75.
34. Islam MO, Bacchetti T, Ferretti G. Alterations of antioxidant enzymes and biomarkers of nitro-oxidative stress in tissues of bladder cancer. Oxid Med Cell Longev. [Internet]. 2019 May 5 [Cited 1.12.2022]; 2019: 2730896. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/2730896/>



18. Erdmann M, Schuler-Thurner B. Dendritic cell vaccines in metastasized malignant melanoma. *G Ital Dermatol Venereol*. 2008; 143(4): 235–50.
19. Flak JN, Patterson CM, Garfield AS, et al. Leptin-inhibited PBN neurons enhance responses to hypoglycemia in negative energy balance. *Nat neurosci*. 2014;17(12): 1744–50.
20. Flevaris K, Kontoravdi C. Immunoglobulin G N-glycan biomarkers for autoimmune diseases: current state and a glycoinformatics perspective. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 May 6 [Cited 1.09.2022]; 23(9): 5180. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9100869/>
21. Gacci M, Coppi M, Baldi E, et al. Semen impairment and occurrence of SARS-CoV-2 virus in semen after recovery from COVID-19. *Hum Reprod*. 2021; 36(6): 1520–9.
22. Gohbara A, Katagiri K, Sato T, et al. In vitro murine spermatogenesis in an organ culture system. *Biology of Reproduction*. 2010; 83(2): 261–7.
23. Gołab K, Grose R, Placencia V, et al. Cell banking for regulatory T cell-based therapy: strategies to overcome the impact of cryopreservation on the Treg viability and phenotype. *Oncotarget*. 2018; 9(11): 9728–40.
24. Goltsev AM, Babenko NM, Gaevska YuO, et al. Change of expression of tumor cell pluripotency genes after cryopreservation. *Cryobiology*. 2020; 97: 289.
25. Goltsev A, Babenko N, Gaevska Yu, et al. Toxicity of nanocomplexes containing gadolinium orthovanadate nanoparticles and cholesterol. *Biol Trace Elem Res*. 2022; 200(10): 4339–54.
26. Goltsev AM, Bondarovich MO, Babenko NM, et al. Effect of different cryopreservation regimens on Ehrlich carcinoma growth. *Cell Tissue Bank*. 2019; 20(3): 411–21.
27. Goltsev AM, Babenko NM, Gaevska YuO, et al. Proliferative activity of Ehrlich carcinoma cells after use of nanocomplexes. In: Fesenko O, Yatsenko, editors. *Nanooptics and photonics, nanochemistry and nanobiotechnology, and their applications*. Springer Proceedings in Physics. Springer Cham; 2023. p. 223–42.
28. Hayden H, Friedl J, Dettke M, et al. Cryopreservation of monocytes is superior to cryopreservation of immature or semi-mature dendritic cells for dendritic cell-based immunotherapy. *J Immunother*. 2009; 32(6): 638–54.
29. Hazra A, Bose P, Sunita P, Pattanayak SP. Molecular epigenetic dynamics in breast carcinogenesis. *Arch Pharm Res*. 2021; 44(8): 741–63.
30. Hernández SS, Jakobsen MR, Bak RO. Plasmacytoid dendritic cells as a novel cell-based cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 Sep 27 [Cited 1.12.2022]; 23(19): 11397. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/19/11397>
31. Iranzo J, Martincorena I, Koonin EV. Cancer-mutation network and the number and specificity of driver mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. [Internet]. 2018 Jun 26 [Cited 1.12.2022]; 115(26): E6010–E6019. Available from: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1803155115>
32. Isaacs JD. Therapeutic agents for patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to tumour necrosis factor- α antagonists. *Expert Opin Biol Ther*. 2009; 9: 1463–75.
33. Islam MO, Bacchetti T, Ferretti G. Alterations of antioxidant enzymes and biomarkers of nitro-oxidative stress in tissues of bladder cancer. *Oxid Med Cell Longev*. [Internet]. 2019 May 5 [Cited 1.12.2022]; 2019: 2730896. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/2730896/>
34. Jahnukainen K, Ehmcke J, Hou M, Schlatt S. Testicular function and fertility preservation in male cancer patients. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2011; 25(2): 287–302.
35. John J, Hutchinson J, Dalgleish A, Pandha H. Cryopreservation of immature monocyte-derived dendritic cells results in enhanced cell maturation but reduced endocytic activity and
36. Jahnukainen K, Ehmcke J, Hou M, Schlatt S. Testicular function and fertility preservation in male cancer patients. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011; 25(2): 287–302.
37. John J, Hutchinson J, Dalgleish A, Pandha H. Cryopreservation of immature monocyte-derived dendritic cells results in enhanced cell maturation but reduced endocytic activity and efficiency of adenoviral transduction. *J Immunol Methods*. 2003; 272(1–2): 35–48.
38. Juarez-Rojas AL, Garcia-Lorenzana M, Aragon-Martinez A, et al. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathways are involved in rat testis by cold water immersion-induced acute and chronic stress. *Syst Biol Reprod Med*. 2015; 61(4): 211–21.
39. Kajdaniuk D, Marek B, Buntner B, Matuszewska G. Stress and endogenous opioid system in neoplastic disease: interactions with hypothalamo-hypophyseal-adrenal axis and pineal gland. *Psychoonkologia*. 1998; (3): 5–10.
40. Karrich JJ, Jachimowski LC, Uittenbogaart CH, Blom B. The plasmacytoid dendritic cell as the Swiss army knife of the immune system: molecular regulation of its multifaceted functions. *J Immunol*. 2014; 193(12): 5772–8.
41. Kashyap D, Garg VK, Goel N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2021; 125: 73–120.
42. Kim YS, Hong S. Controversial roles of cold-inducible RNA-binding protein in human cancer (Review). *Int J Oncol* [Internet]. 2021 Sep 24 [Cited 1.12.2022]; 59(5): 91. Available from: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2021.5271>
43. Kim MK, Kim J. Properties of immature and mature dendritic cells: phenotype, morphology, phagocytosis, and migration. *RSC Adv*. 2019; 9(20): 11230–8.
44. Kim KJ, Lee YA, Kim BJ, et al. Cryopreservation of putative prepubertal bovine spermatogonial stem cells by slow freezing. *Cryobiology*. 2015; 70: 175–83.
45. Kobold S, Lütgens T, Cao Y, et al. Autoantibodies against tumor-related antigens: incidence and biologic significance. *Hum Immunol*. 2010; 71(7): 643–51.
46. Kocarnik JM, Compton K, Dean FE, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. *JAMA Oncol*. 2022; 8(3): 420–44.
47. Koval GK, Lutsenko OD, Grisha IG, et al. Impact of lyophilisation on integrity of structural and functional characteristics of human cord blood leukoncentrate. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2019; 29(4): 332–43.
48. Knewton KE, Ohl NR, Robinson JL. Estrogen signaling dictates musculoskeletal stem cell behavior: sex differences in tissue repair. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022; 28(4): 789–812.
49. Kwiecień I, Rutkowska E, Raniszewska A, et al. Immunosuppressive properties of human PD-1+, PDL-1+ and CD80+ dendritic cells from lymph nodes aspirates of lung cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2022; 71(10): 2469–83.
50. Kysielova H, Yampolska K, Dubrava T, et al. Improvement of bone marrow mononuclear cells cryopreservation methods to increase the efficiency of dendritic cell production. *Cryobiology*. 2022; 106: 122–30.
51. Lewalle P, Rouas R, Lehmann F, Martiat P. Freezing of dendritic cells, generated from cryopreserved leukaphereses, does not influence their ability to induce antigen-specific immune responses or functionally react to maturation stimuli. *J Immunol Methods*. 2000; 240(1–2): 69–78.
52. Li K, Shi H, Zhang B, et al. Myeloid-derived suppressor cells as immunosuppressive regulators and therapeutic targets in cancer. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2021 Oct 7 [Cited 1.12.2022]; 6(1): 362. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00670-9>
53. Lin M, Cao H, Meng Q, et al. Insights into the crystallization and vitrification of cryopreserved cells. *Cryobiology*. 2022; 106: 13–23.



- efficiency of adenoviral transduction. *J Immunol Methods*. 2003; 272(1-2): 35–48.
36. Juarez-Rojas AL, Garcia-Lorenzana M, Aragon-Martinez A, et al. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathways are involved in rat testis by cold water immersion-induced acute and chronic stress. *Syst Biol Reprod Med*. 2015; 61(4): 211–21.
 37. Kajdaniuk D, Marek B, Buntner B, Matuszewska G. Stress and endogenous opioid system in neoplastic disease: interactions with hypothalamo-hypophyseal-adrenal axis and pineal gland. *Psychoonkologia*. 1998; (3): 5–10.
 38. Karrich JJ, Jachimowski LC, Uittenbogaart CH, Blom B. The plasmacytoid dendritic cell as the Swiss army knife of the immune system: molecular regulation of its multifaceted functions. *J Immunol*. 2014; 193(12): 5772–8.
 39. Kashyap D, Garg VK, Goel N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2021; 125: 73–120.
 40. Kim YS, Hong S. Controversial roles of cold-inducible RNA-binding protein in human cancer (Review). *Int J Oncol* [Internet]. 2021 Sep 24 [Cited 1.12.2022]; 59(5): 91. Available from: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2021.5271>
 41. Kim MK, Kim J. Properties of immature and mature dendritic cells: phenotype, morphology, phagocytosis, and migration. *RSC Adv*. 2019; 9(20): 11230–8.
 42. Kim KJ, Lee YA, Kim BJ, et al. Cryopreservation of putative pre-pubertal bovine spermatogonial stem cells by slow freezing. *Cryobiology*. 2015; 70: 175–83.
 43. Kobold S, Lütgens T, Cao Y, et al. Autoantibodies against tumor-related antigens: incidence and biologic significance. *Hum Immunol*. 2010; 71(7): 643–51.
 44. Kocarnik JM, Compton K, Dean FE, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. *JAMA Oncol*. 2022; 8(3): 420–44.
 45. Knewton KE, Ohl NR, Robinson JL. Estrogen signaling dictates musculoskeletal stem cell behavior: sex differences in tissue repair. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022; 28(4): 789–812.
 46. Kwiecień I, Rutkowska E, Raniszewska A, et al. Immunosuppressive properties of human PD-1+, PDL-1+ and CD80+ dendritic cells from lymph nodes aspirates of lung cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2022; 71(10): 2469–83.
 47. Kysielova H, Yampolska K, Dubrava T, et al. Improvement of bone marrow mononuclear cells cryopreservation methods to increase the efficiency of dendritic cell production. *Cryobiology*. 2022; 106: 122–30.
 48. Lewalle P, Rouas R, Lehmann F, Martiat P. Freezing of dendritic cells, generated from cryopreserved leukaphereses, does not influence their ability to induce antigen-specific immune responses or functionally react to maturation stimuli. *J Immunol Methods*. 2000; 240(1-2): 69–78.
 49. Li K, Shi H, Zhang B, et al. Myeloid-derived suppressor cells as immunosuppressive regulators and therapeutic targets in cancer. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2021 Oct 7 [Cited 1.12.2022]; 6(1): 362. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00670-9>
 50. Lin M, Cao H, Meng Q, et al. Insights into the crystallization and vitrification of cryopreserved cells. *Cryobiology*. 2022; 106: 13–23.
 51. Lin H, Yuan KM, Zhou HY, et al. Time-course changes of steroidogenic gene expression and steroidogenesis of rat Leydig cells after acute immobilization stress. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(11): 21028–44.
 52. Lutgendorf SK, Cole S, Costanzo E, et al. Stress-related mediators stimulate vascular endothelial growth factor secretion by two ovarian cancer cell lines. *Clin Cancer Res*. 2003; 9(12): 4514–21.
 53. Lin H, Yuan KM, Zhou HY, et al. Time-course changes of steroidogenic gene expression and steroidogenesis of rat Leydig cells after acute immobilization stress. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(11): 21028–44.
 54. Lutgendorf SK, Cole S, Costanzo E, et al. Stress-related mediators stimulate vascular endothelial growth factor secretion by two ovarian cancer cell lines. *Clin Cancer Res*. 2003; 9(12): 4514–21.
 55. Ma Y, Gao L, Tian Y. Advanced biomaterials in cell preservation: Hypothermic preservation and cryopreservation. *Acta Biomater*. 2021; 131(13): 97–116.
 56. Malyukin YuV. New luminescent nanomaterials: functional properties, biomedical and technical applications. *Visn Nac Acad Nauk Ukr*. 2017; (12): 28–34.
 57. Mazzone R, Zwergel C, Artico M, et al. The emerging role of epigenetics in human autoimmune disorders. *Clin Epigenet* [Internet]. 2019 Feb 26 [Cited 1.12.2022]; 11: 34. Available from: <https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0632-2>
 58. Meneghel J, Kilbride P, Morris GJ. Cryopreservation as a key element in the successful delivery of cell-based therapies – a review. *Front Med (Lausanne)* [Internet]. 2020 Nov 26 [Cited 1.12.2022]; 7: 592242. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.592242/full>
 59. Mitsuya K, Akiyama Y, Izuka A, et al. Alpha-type-1 polarized dendritic cell-based vaccination in newly diagnosed high-grade glioma: a phase II clinical trial. *Anticancer Res*. 2020; 40(11): 6473–84.
 60. Nam J-H, Lee J-H. Functional ambivalence of dendritic cells: tolerogenicity and immunogenicity. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Apr 23 [Cited 1.12.2022] 22: 4430. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/9/4430>
 61. Neto FTL, Bach PV, Najari BB. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Semin Cell Dev Biol*. 2016; 59: 10–26.
 62. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2014; 13(6): 668–77.
 63. Norris PAA, Kaur G, Lazarus AH. New insights into IVlg mechanisms and alternatives in autoimmune and inflammatory diseases. *Curr Opin Hematol*. 2020; 27(6): 392–8.
 64. O'Donovan A, Cohen BE, Seal KH, et al. Elevated risk for autoimmune disorders in Iraq and Afghanistan veterans with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2015; 77(4): 365–74.
 65. Pace TW, Wingenfeld K, Schmidt I, et al. Increased peripheral NF-kappaB pathway activity in women with childhood abuse-related posttraumatic stress disorder. *Brain Behav Immun*. 2012; 26: 13–7.
 66. Palomba S, Daolio J, Romeo S, Battaglia FA, et al. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on female fertility. *Reprod Biol Endocrinol*. [Internet]. 2018 Dec 2 [Cited 25.06.2022]; 16(1): 113. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6275085/>
 67. Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis. *Trends Cell Biol*. 2019; 29(3): 212–26.
 68. Pecans A, Alessandri C. Prevalence, sensitivity and specificity of antibodies against carbamylated proteins in a monocentric cohort of patients with rheumatoid arthritis and other autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2016 Nov 26 [Cited 1.12.2022]; 18: 276. Available from: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-016-1173-0>
 69. Plantinga M, de Haar CG, Dünnebach E, van den Beemt DAMH, et al. Cord-blood-stem-cell-derived conventional dendritic cells specifically originate from CD115-expressing precursors. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2019 Feb 5 [Cited 1.12. 2022]; 11(2): 181. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/2/181>



53. Ma Y, Gao L, Tian Y. Advanced biomaterials in cell preservation: Hypothermic preservation and cryopreservation. *Acta Biomater.* 2021; 131(13): 97–116.
54. Mazzone R, Zwergel C, Artico M, et al. The emerging role of epigenetics in human autoimmune disorders. *Clin Epigenet* [Internet]. 2019 Feb 26 [Cited 1.12. 2022]; 11: 34. Available from: <https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0632-2>
55. Meneghel J, Kilbride P, Morris GJ. Cryopreservation as a key element in the successful delivery of cell-based therapies – a review. *Front Med (Lausanne)* [Internet]. 2020 Nov 26 [Cited 1.12.2022]; 7: 592242. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.592242/full>
56. Mitsuya K, Akiyama Y, Iizuka A, et al. Alpha-type-1 polarized dendritic cell-based vaccination in newly diagnosed high-grade glioma: A phase II clinical trial. *Anticancer Res.* 2020; 40(11): 6473–84.
57. Nam J-H, Lee J-H. Functional ambivalence of dendritic cells: tolerogenicity and immunogenicity. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Apr 23 [Cited 1.12.2022] 22: 4430. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/9/4430>
58. Neto FTL, Bach PV, Najari BB. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. In *Seminars in cell & developmental biology.* 2016; 59: 10–26.
59. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev.* 2014; 13(6): 668–77.
60. Norris PAA, Kaur G, Lazarus AH. New insights into IVlg mechanisms and alternatives in autoimmune and inflammatory diseases. *Curr Opin Hematol.* 2020; 27(6): 392–98.
61. O'Donovan A, Cohen BE, Seal KH, et al. Elevated risk for autoimmune disorders in Iraq and Afghanistan veterans with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry.* 2015; 77(4): 365–74.
62. Pace TW, Wingenfeld K, Schmidt I, et al. Increased peripheral NF-kappaB pathway activity in women with childhood abuse-related posttraumatic stress disorder. *Brain Behav Immun.* 2012; 26: 13–7.
63. Palomba S, Daolio J, Romeo S, et al. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* [Internet]. 2018 Dec 2 [Cited 25.06.2022]; 16(1): 113. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6275085/>
64. Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis. *Trends Cell Biol.* 2019; 29(3): 212–26.
65. Pecans A, Alessandri C. Prevalence, sensitivity and specificity of antibodies against carbamylated proteins in a monocentric cohort of patients with rheumatoid arthritis and other autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2016 Nov 26 [Cited 1.12.2022]; 18: 276. Available from: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-016-1173-0>
66. Plantinga M, de Haar CG, Dünnebach E, et al. Cord-blood-stem-cell-derived conventional dendritic cells specifically originate from CD115-expressing precursors. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2019 Feb 5 [Cited 1.12. 2022]; 11(2): 181. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/2/181>
67. Pu C, Tian S, He S, et al. Depression and stress levels increase risk of liver cancer through epigenetic downregulation of hypocretin. *Genes Dis.* 2020; 9(4):1024–37.
68. Qu XD, Qu ZH, Zuo JX, Sun LR. [Enhancing effect of dendritic cells derived from human cord blood on T cells in killing tumor cells]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2007; 15(3): 586–90. Chinese
69. Rauscher GH, Umama AA, Warnecke RB. Abstract A91: Does psycho-social stress play a role in the etiology of aggressive breast cancer? A cross-sectional study. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* [Internet]. 2011 [Cited 1.12.2022]; 20(10 Suppl.): A91–A91. Available from: https://aacrjournals.org/cebip/article/20/10_Supplement/A91/179072/Abstract-A91-Does-psychosocial-stress-play-a-role
70. Rodgers AB, Bale TL. Germ cell origins of posttraumatic stress disorder risk: the transgenerational impact of parental stress experience. *Biol Psychiatry.* 2015; 78(5): 307–14.
71. Safari F, Farajnia S, Arya M, et al. CRISPR and personalized Treg therapy: new insights into the treatment of rheumatoid arthritis. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2018; 40(3): 201–11.
72. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell.* 2008; 133(5): 775–87.
73. Salliot C, Gossec L, Ruysse-Witrand A, et al. Infections during tumour necrosis factor-alpha blocker therapy for rheumatic diseases in daily practice: a systematic retrospective study of 709 patients. *Rheumatology (Oxford).* 2007; 46: 327–34.
74. Sastry KS, Karpova Y, Prokopovich S, et al. Epinephrine protects cancer cells from apoptosis via activation of cAMP-dependent protein kinase and BAD phosphorylation. *J Biol Chem.* 2007; 282(19): 14094–100.
75. Sato T, Katagiri K, Kubota Y, Ogawa T. In vitro sperm production from mouse spermatogonial stem cell lines using an organ culture method. *Nat Protoc.* 2013; 8(11): 2098–104.
76. Schirrmacher V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *Int J Oncol.* 2019; 54(2): 407–19.
77. Selye H. Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J.* 1950; 1: 1383–92.
78. Sengupta P, Mohamed A, Haitham E. Hormonal regulation of spermatogenesis. In: Singh R., editor. *Molecular signaling in spermatogenesis and male infertility.* Boca Raton: CRC Press; 2019. p. 41–9.
79. Shinde P, Khan N, Melinkeri S, et al. Freezing of dendritic cells with trehalose as an additive in the conventional freezing medium results in improved recovery after cryopreservation. *Transfusion.* 2019; 59(2): 686–96.
80. Smith JF, Yango P, Altman E, et al. Testicular niche required for human spermatogonial stem cell expansion. *Stem Cells Transl Med.* 2014; 3(9): 1043–54.
81. Sobhani N, Scaggianti B, Morris R, et al. Therapeutic cancer vaccines: From biological mechanisms and engineering to ongoing clinical trials. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2022 June 21 [Cited 1.12.2022]; 109: 102429. Available from: [https://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305-7372\(22\)00093-7/fulltext](https://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305-7372(22)00093-7/fulltext)
82. Song H, Fang F, Tomasson G, et al. Association of stress-related disorders with subsequent autoimmune disease. *JAMA.* 2018; 319(23): 2388–400.
83. Sood AK, Bhatti R, Kamat AA, et al. Stress hormone-mediated invasion of ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(2): 369–75.
84. Stoop JN, Robinson JH, Hilken CMU. Developing tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: what can we learn from mouse models? *Ann Rheum Dis.* 2011; 70: 1526–33.
85. Tao Y, Sanger E, Saewu A, et al. Human sperm vitrification: the state of the art. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2020



- article/2010_Supplement/A91/179072/Abstract-A91-Does-psychosocial-stress-play-a-role
70. Rodgers AB, Bale TL. Germ cell origins of posttraumatic stress disorder risk: the transgenerational impact of parental stress experience. *Biol. Psychiatry*. 2015; 78(5): 307–14.
 71. Safari F, Farajnia S, Arya M, et al. CRISPR and personalized Treg therapy: new insights into the treatment of rheumatoid arthritis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2018; 40(3): 201–11.
 72. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133(5): 775–87.
 73. Salliot C, Gossec L, Ruysse-Witrand A, et al. Infections during tumour necrosis factor-alpha blocker therapy for rheumatic diseases in daily practice: a systematic retrospective study of 709 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2007; 46: 327–34.
 74. Sastry KS, Karpova Y, Prokopovich S, et al. Epinephrine protects cancer cells from apoptosis via activation of cAMP-dependent protein kinase and BAD phosphorylation. *J Biol Chem*. 2007; 282(19): 14094–100.
 75. Sato T, Katagiri K, Kubota Y, Ogawa T. In vitro sperm production from mouse spermatogonial stem cell lines using an organ culture method. *Nat Protoc*. 2013; 8(11): 2098–104.
 76. Schirmacher V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *Int J Oncol*. 2019; 54(2): 407–19.
 77. Selye H. Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J*. 1950; 1: 1383–92.
 78. Sengupta P, Mohamed A, Haitham E. Hormonal regulation of spermatogenesis. In: Singh R., editor. *Molecular signaling in spermatogenesis and male infertility*. Boca Raton: CRC Press; 2019. p. 41–9.
 79. Shinde P, Khan N, Melinkeri S, et al. Freezing of dendritic cells with trehalose as an additive in the conventional freezing medium results in improved recovery after cryopreservation. *Transfusion*. 2019; 59(2): 686–96.
 80. Smith JF, Yango P, Altman E, et al. Testicular niche required for human spermatogonial stem cell expansion. *Stem Cells Transl Med*. 2014; 3(9): 1043–54.
 81. Sobhani N, Scaggiante B, Morris R, et al. Therapeutic cancer vaccines: From biological mechanisms and engineering to ongoing clinical trials. *Cancer Treat Rev [Internet]*. 2022 June 21 [Cited 1.12.2022]; 109: 102429. Available from: [https://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305-7372\(22\)00093-7/fulltext](https://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305-7372(22)00093-7/fulltext)
 82. Song H, Fang F, Tomasson G, et al. Association of stress-related disorders with subsequent autoimmune disease. *JAMA*. 2018; 319(23): 2388–400.
 83. Sood AK, Bhatti R, Kamat AA, et al. Stress hormone-mediated invasion of ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2006; 12(2): 369–75.
 84. Stoop JN, Robinson JH, Hilkens CMU. Developing tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: what can we learn from mouse models? *Ann Rheum Dis*. 2011; 70: 1526–33.
 85. Tao Y, Sanger E, Saewu A, et al. Human sperm vitrification: the state of the art. *Reprod Biol Endocrinol [Internet]*. 2020 March 7 [Cited 26.06.2022]; 18: 17. Available from: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-020-00580-5>
 86. Tilan J, Kitlinska J. Sympathetic neurotransmitters and tumor angiogenesis-link between stress and cancer progression. *J Oncol [Internet]*. 2010 May 20 [Cited 1.12.2022]; 2010: 539706. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jo/2010/539706/>
 87. Usero L, Miralles L, Esteban I, et al. Feasibility of using monocyte-derived dendritic cells obtained from cryopreserved cells for DC-based vaccines. *J Immunol Methods*. 2021; 498: 113133.
 88. Volkova NO, Yukhta MS, Chernyshenko LG, et al. Cryopreservation of rat seminiferous tubules using biopolymers March 7 [Cited 26.06.2022]; 18: 17. Available from: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-020-00580-5>
 86. Tilan J, Kitlinska J. Sympathetic neurotransmitters and tumor angiogenesis-link between stress and cancer progression. *J Oncol [Internet]*. 2010 May 20 [Cited 1.12.2022]; 2010: 539706. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jo/2010/539706/>
 87. Usero L, Miralles L, Esteban I, et al. Feasibility of using monocyte-derived dendritic cells obtained from cryopreserved cells for DC-based vaccines. *J Immunol Methods*. 2021; 498: 113133.
 88. Volkova NO, Yukhta MS, Chernyshenko LG, et al. Cryopreservation of rat seminiferous tubules using biopolymers
 86. Tilan J, Kitlinska J. Sympathetic neurotransmitters and tumor angiogenesis-link between stress and cancer progression. *J Oncol [Internet]*. 2010 May 20 [Cited 1.12.2022]; 2010: 539706. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jo/2010/539706/>
 87. Usero L, Miralles L, Esteban I, et al. Feasibility of using monocyte-derived dendritic cells obtained from cryopreserved cells for DC-based vaccines. *J Immunol Methods*. 2021; 498: 113133.
 88. Volkova NO, Yukhta MS, Chernyshenko LG, et al. Cryopreservation of rat seminiferous tubules using biopolymers
 89. Volkova N, Yukhta M, Goltsev A. Vitrification of rat testicular tissue using biopolymers. *Biopolym Cell*. 2020; 36(2): 122–32.
 90. Volkova N, Yukhta M, Sokil L. Cryopreserved fragments of testicular seminiferous tubules of rats as a source of spermatogonial stem cells. *JCOT*. 2021; 9(1): 36–42.
 91. Volkova N, Yukhta M, Stepaniuk L, et al. Biopolymer gels as components of protective medium for cryopreservation of spermatogonial stem cells. *J Biomater Appl. [Internet]*. 2023; 37(8):1436-45.
 92. Wolach O, Shpilberg O, Lahav M. Neutropenia after rituximab treatment: new insights on a late complication. *Curr Opin Hematol*. 2012; 19(1): 32–8.
 93. Wu L, Zhang H, Jiang Y, et al. Induction of antitumor cytotoxic lymphocytes using engineered human primary blood dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA [Internet]*. 2018 Apr 19 [Cited 1.12.2022]; 115(19): E4453-E4462. Available from: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1800550115>
 94. Wyns C, Kanbar M, Giudice MG, Poels J. Fertility preservation for prepubertal boys: lessons learned from the past and update on remaining challenges towards clinical translation. *Hum Reprod Update*. 2021; 27(3): 433–59.
 95. Yang M, Xu W, Wang Yu, et al. CD11b-activated Src signal attenuates neuroinflammatory pain by orchestrating inflammatory and anti-inflammatory cytokines in microglia. *Mol Pain. [Internet]*. 2018 Oct 3 [Cited 1.12.2022]; 14:1744806918808150. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6311569/>
 96. Yazawa H, Sasagawa I, Nakada T. Apoptosis of testicular germ cells induced by exogenous glucocorticoid in rats. *Hum Reprod*. 2000; 15(9): 1917–20.
 97. Yurchuk T, Petrushko M, Gapon A, et al. The impact of cryopreservation on the morphology of spermatozoa in men with oligoasthenoteratozoospermia. *Cryobiology*. 2021; 100: 117–24.
 98. Zahavi DJ, Weiner LM. Tumor mechanisms of resistance to immune attack. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2019; 164: 61–100.
 99. Zein H, Mohammad K, Leijser LM, et al. Cord blood cytokine levels correlate with types of placental pathology in extremely preterm infants. *Front Pediatr [Internet]*. 2021 Mar 11 [Cited 1.12.2022]; 9: 607684. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2021.607684/full>
 100. Zhang H, Dai Z, Wu W, et al. Regulatory mechanisms of immune checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in cancer. *J Exp Clin Cancer Res [Internet]*. 2021 Jun 4 [Cited 1.12.2022]; 40(1): 184. Available from: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-021-01987-7>
 101. Zhou Q, Zhang Y, Zhao M, et al. Mature dendritic cell derived from cryopreserved immature dendritic cell shows impaired homing ability and reduced anti-viral therapeutic effects. *Sci Rep [Internet]*. 2016 Dec 13 [Cited

- and slow non-controlled rate cooling. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2018; 28(4): 278–92.
89. Volkova N, Yukhta M, Goltsev A. Vitrification of rat testicular tissue using biopolymers. *Biopolym Cell.* 2020; 36(2): 122–32.
90. Volkova N, Yukhta M, Sokil L. Cryopreserved fragments of testicular seminiferous tubules of rats as a source of spermatogonial stem cells. *JCOT.* 2021; 9(1): 36–42.
91. Volkova N, Yukhta M, Stepaniuk L, et al. Biopolymer gels as components of protective medium for cryopreservation of spermatogonial stem cells. *J Biomater Appl.* 2023; 37(8):1436-45.
92. Wolach O, Shpilberg O, Lahav M. Neutropenia after rituximab treatment: new insights on a late complication. *Curr Opin Hematol.* 2012; 19(1): 32–8.
93. Wu L, Zhang H, Jiang Y, et al. Induction of antitumor cytotoxic lymphocytes using engineered human primary blood dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA [Internet].* 2018 Apr 19 [Cited 1.12.2022]; 5(19): E4453-E4462. Available from: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1800550115>
94. Wyns C, Kanbar M, Giudice MG, Poels J. Fertility preservation for prepubertal boys: lessons learned from the past and update on remaining challenges towards clinical translation. *Hum Reprod Update.* 2021; 27(3): 433–59.
95. Yang M, Xu W, Wang Yu, et al. CD11b-activated Src signal attenuates neuroinflammatory pain by orchestrating inflammatory and anti-inflammatory cytokines in microglia. *Mol Pain.* [Internet]. 2018 Oct 3 [Cited 1.12.2022]; 14:1744806918808150. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6311569/>
96. Yazawa H, Sasagawa I, Nakada T. Apoptosis of testicular germ cells induced by exogenous glucocorticoid in rats. *Hum Reprod.* 2000; 15(9): 1917–20.
97. Yurchuk T, Petrushko M, Gapon A, et al. The impact of cryopreservation on the morphology of spermatozoa in men with oligoasthenoatozoospermia. *Cryobiology.* 2021; 100: 117–24.
98. Zahavi DJ, Weiner LM. Tumor mechanisms of resistance to immune attack. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2019; 164: 61–100.
99. Zein H, Mohammad K, Leijser LM, et al. Cord blood cytokine levels correlate with types of placental pathology in extremely preterm infants. *Front Pediatr [Internet].* 2021 Mar 11 [Cited 1.12.2022]; 9: 607684. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2021.607684/full>
100. Zhang H, Dai Z, Wu W, et al. Regulatory mechanisms of immune checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in cancer. *J Exp Clin Cancer Res [Internet].* 2021 Jun 4 [Cited 1.12.2022]; 40(1): 184. Available from: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-021-01987-7>
101. Zhou Q, Zhang Y, Zhao M, et al. Mature dendritic cell derived from cryopreserved immature dendritic cell shows impaired homing ability and reduced anti-viral therapeutic effects. *Sci Rep [Internet].* 2016 Dec 13 [Cited 1.12.2022]; 6: 39071. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep39071>

