

ISSN 2664-472X

e ISSN 2664-4738

Medical Science of Ukraine

Медична наука України

2021, Vol. 17, №2

Medical Science of Ukraine. 2021, Vol. 17, №2



ISSN 2664-472X



9 772664 472004



17

ISSN 2664-472X
e ISSN 2664-4738
<https://doi.org/10.32345>
Medical science of Ukraine
2021, Vol. 17, No. 2

Certificate of state registration:
KB № 21521-11421 ПП dated 18.08.2015

Periodicity:
published four times a year

Scientific and practical journal in the field: Medicine.
Distributed in Ukraine and abroad

Founder:
Bogomolets National Medical University

Editor in Chief: Zemskov S. V.

Deputy Editor-in-Chief:
Kanyura O. A., Babel N. (Germany)

Members of the editorial board:
Gruzeva O. V. (Sweden), Grando S. O. (USA), Babel N. (Germany), Kulchytsky V. A. (Belarus), Srivastava H. M. (Canada), Shamsi Sh. (India), Kafipour R. (Iran), Omelchuk S. T., Zakharash U. M., Ziablitsev S. V., Nizhenkivska I. V., Khaytovych M. V., Iaremenko O. B., Natrus L.V., Dyndar O. A., Guryanov V. G., Chalyy K. O., Dzhus M B., Panova T. I., Zhegulovych Z. E., Zhaboedov D. G., Ventskiivskiy B. M., Mykhailachenko B. V., Ushko Ia. A., Nishkumay O. I., Netyazhenko N. V., Kulbashna Y. A., Vygovska O. V. (Ukraine)

The journal «Medical Science of Ukraine» is included in the list of scientific professional editions of Ukraine (category «B»), which are recommended for publication of dissertation materials for obtaining scientific degrees of the doctor of sciences (Sc.D.) and candidate of sciences (Ph.D.).

Branch of science – medical sciences in the following specialties:

221 – Dentistry
222 – Medicine
224 – Technologies of medical diagnostics and treatment
225 – Medical psychology
226 – Pharmacy, industrial pharmacy
227 – Physical therapy, occupational therapy
228 – Pediatrics
229 – Public Health

Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine on 26th of November, 2020, No. 1471 (Appendix 3, paragraph 44)
Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine on 13th of March, 2017, No. 374
The decision of the State Accreditation Commission of Ukraine on 18th of November, 2009, № n 1-05/5

Address of the editor:
Shevchenko's boulevard, 13, Kyiv, 01601

For correspondence:
01601, Kyiv, Shevchenko's boulevard, 13
Tel./fax (044) 234-69-75; (095) 244-27-26

Web-site: msu-journal.com

E-mail: msu@nmu.ua; msu.nmu34@gmail.com

For the reliability of the information in the publications, the authors of the article bear responsibility. Author's materials do not always reflect the point of view of the editorial staff.
In case of reprinting the reference is required.

Signed for print on June 26, 2021
Conditional printed sheets 11. Format 60x84 1/8.
Circulation 500 copies.
Published by Publishing House «505»
Ukraine, Zhytomyr, street Mala Berdychivska, 17A
Phone: +38063 101 22 33
Certificate DK № 5609 dated 21.09.2017

ISSN 2664-472X
e ISSN 2664-4738
<https://doi.org/10.32345>
Медицина наука України
2021, Т. 17, № 2

Свідоцтво про державну реєстрацію
KB № 21521-11421 ПП від 18.08.2015

Періодичність видання:

1 раз на квартал
Галузь науки: медична
Категорія: Б
Статус видання: розповсюджується в Україні та за кордоном

Засновник
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Головний редактор: Земсков С. В.

Заступники редактора:
Канюра О. А., Babel N. (Німеччина)

Члени редколегії:
Gruzeva O. V. (Швеція), Grando S. O. (США), Babel N. (Німеччина), Кульчицький В. А. (Білорусь), Srivastava H. M. (Канада), Shamsi Sh. (Індія), Кафіроур Р. (Іран), Омельчук С. Т., Захараш Ю. М., Зябліщев С. В., Ніженківська І. В., Хайтович М. В., Яременко О. Б., Натрус Л. В., Диндар О. А., Гур'янов В. Г., Чалий К. О., Джус М. Б., Панова Т. І., Жегулович З. Є., Жабосдов Д. Г., Венцківський Б. М., Михайліченко Б. В., Ушко Я. А., Нішкумай О. І., Нетяженко Н. В., Кульбашна Я. А., Виговська О. В. (Україна)

Журнал «Медицина наука України» включено в категорію «Б» – перелік наукових фахових видань України, рекомендованих для публікації дисертаційних матеріалів на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та доктора філософії у галузі «Медицина», спеціальності:

221 – стоматологія
222 – медицина
224 – технології медичної діагностики та лікування
225 – медична психологія
226 – фармація, промислова фармація
227 – фізична терапія, ерготерапія;
228 – педіатрія;
229 – громадське здоров'я

Наказ Міністерства освіти та науки України від 26.11.2020, № 1471 (Додаток 3, пункт 44)
Наказ Міністерства освіти та науки України від 13.03.2017, № 374
Постанова Президії Вищої Атестаційної Комісії України від 18.11.2009, № n 1-05/5

Адреса редакції:
01601, м. Київ, бульв. Шевченка, 13

Для кореспонденцій:
01601, м. Київ, бульв. Т. Шевченка, 13
Тел./факс (044) 234-69-75; моб. (095) 244-27-26 (секретар)

Сайт видання: msu-journal.com

E-mail: msu@nmu.ua; msu.nmu34@gmail.com

За достовірність інформації в публікаціях відповідальність несуть автори статті. Авторські матеріали не завжди віддзеркалюють точку зору редакції.
При передруку посилання обов'язкове.

Підписано до друку 26.06.2021
Ум. друк. арк. 11. Формат 60x84 1/8.
Тираж 500 прим. Зам. 71-2
Надруковано у ТОВ «505»
Україна, м. Житомир, вул. Мала Бердичівська, 17А
Тел.: +38063 101 22 33
Свідоцтво ДК № 5609 від 21.09.2017 р.

Medical Science of Ukraine

Медична наука України

2021. Т. 17, № 2

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

<https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2021>

Періодичність видання – 1 раз на квартал

ЗМІСТ

ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

*Дзевульська І.В., Матківська Р.М., Синицька А.М.,
Присяжнюк Л.В., Янчишин А.В.*

Порівняльна характеристика змін в судинах гемо- та лімфомікроциркуляторного русла скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів за умов застосування інфузійних розчинів при експериментальній опіковій хворобі

*Мироненко О.І., Панова Т.І., Натрус Л.В.,
Верьовка С.В.* Вплив фермент-вмісних полімерних наночастинок на активність MMP-2 під час загоєння опікової рани у щурів зі стрептозоточиновим діабетом

*Павлович С.І., Грушка Н.Г., Кондрацька О.А.,
Красуцька Н.О., Янчій Р.І.* Стан клітин імунної системи при експериментальному імуноопосередкованому запаленні різного генезу

Андрусишина І.М. Елементний гомеостаз щурів лінії вістар, як прояв адаптації, в експерименті з навантаженням металами у формі мікро- та наночастинок

Козак Л.П. Особливості етанольної інтоксикації тварин при застосуванні інтервального гіпоксичного тренування на початку споживання алкоголю

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

*Балабай А.А., Крикунов О.А., Семенів П.М.,
Руденко О.В., Захарова В.П.* Морфофункціональні особливості міокарда при його діастолічному перевантаженні

CONTENT

THEORETICAL MEDICINE

3 *Dzevulska I.V., Matkivska R.M., Sinitska A.M.,
Prysiashnjuk L.V., Yanchyshyn A.Y.*

Comparative characteristics of changes in the vessels of the hemo- and lymphocirculatory bed of accumulation of lymphoid nodes of the ilium of rats under the conditions of infusion solutions in experimental burn

12 *Myronenko O.I., Panova T.I., Natrus L.V.,
Verevka S.V.* Effect of the enzyme-containing polymeric nanoparticles on MMP-2 activity during burn wound healing in the rats with streptozotocin-induced diabetes

20 *Pavlovych S.I., Grushka N.G., Kondratska O.A.,
Krasutska N.O., Yanchii R.S.* The state of the cells of the immune system in experimental immune-mediated inflammation of various genesis

27 *Andrusyshyna I.M.* Elemental homeostasis in wistar rats as a manifestation of adaptation in an experiment with metal loading in the form of micro- and nanoparticles

33 *Kozak L.P.* Peculiarities of ethanol intoxication of animals at application of intermittent hypoxic training at the beginning of alcohol consumption

CLINICAL MEDICINE

39 *Balabai A.A., Krikunov A.A., Semeniv P.M.,
Rudenko E.V., Zakharova V.P.* Morphofunctional features of the myocardium in its diastolic overload

Bazhenova N.M. The state of platelet hemostasis in patients with hypertensive disease combined with non-alcoholic fat liver disease

Радченко А.О., Колеснікова О.В. Зв'язок антиоксидантного захисту з календарним та біологічним віком у пацієнтів з артеріальною гіпертензією

Яременко О.Б., Микитенко Г.М. Асоціація серологічного статусу з частотою досягнення клінічної та рентгенологічної ремісії при ревматоїдному артриті

Качковська В.В., Приступа Л.Н. Аналіз асоціації клінічного перебігу бронхіальної астми з Arg16Gly поліморфним варіантом гена β_2 -адренорецептора

Багмут І.Ю., Мовчан О.В., Граматюк С.М. Гіперкриоглобулінемія як патофізіологічна ланка розвитку післяопераційних ускладнень у хворих при раку шлунка

Надрага О.Б., Корнійчук О.П., Клименко Х.П. Видовий спектр мікробіоти ротоглотки дітей з інфекційним мононуклеозом Епштейн-Барр вірусної етіології

Москалюк В.Д., Рандюк Ю.О., Баланюк І.В., Колотило Т.Р. Клініко-епідеміологічна характеристика нової коронавірусної інфекції в умовах сьогодення

ПРОФІЛАКТИЧНА МЕДИЦИНА

Коршун О.М., Ліпавська А.О., Мілохов Д.С., Аврамчук А.О., Омельчук С.Т. Вдосконалення аналітичного контролю за застосуванням пестицидів в системі хімічного захисту нуту

ОГЛЯДИ

Гринь Н.В., Бурлака Ю.Б. Етіологія та патогенез раку гортаноглотки: генетичні та імунологічні фактори розвитку. Огляд

Марушко Ю.В., Хомич О.В., Гищак Т.В., Таринська О.Л., Шчегель Г.О. Сучасний стан проблеми застосування променевих та акустичних методів діагностики пневмонії, у тому числі викликаної вірусом SARS-COV-2, у дітей. Огляд

Маракушин Д.І., Чернобай Л.В., Ващук М.А., Ісаєва І.М., Кармазіна І.С., Мамон М.О., Головка М.Д. Фізіологічні механізми розвитку втоми. Огляд

47 *Bazhenova N.M.* The state of platelet hemostasis in patients with hypertensive disease combined with non-alcoholic fat liver disease

53 *Radchenko A.O., Kolesnikova O.V.* Association between of antioxidant protection with chronological and biological age in patients with arterial hypertension

59 *Iaremenko O.B., Mykytenko G.M.* Association of serological status with the frequency of clinical and radiological remission in rheumatoid arthritis

70 *Kachkovska V.V., Prystupa L.N.* Analysis of the association of bronchial asthma clinical course with Arg16Gly polymorphic variant in the β_2 -adrenoceptor gene

77 *Bagmut I.Yu., Movchan O.V., Gramatiuk S.M.* Gipercriyoglobulinemia such patophysiological link in the postoperative complications for stomach cancer patients

82 *Nadruga A.B., Korniyuchuk O.P., Klymenko Kh.P.* The oropharynx microbiome profile of children with infectious mononucleosis Epstein-Barr viral etiology

90 *Moskalyuk V.D., Randiuk Y.O., Balanyuk I.V., Kolotylo T.R.* Clinical and epidemiological characteristics of a new coronavirus infection in the present conditions

PREVENTIVE MEDICINE

96 *Korshun O.M., Lipavska A.O., Milokhov D.S., Avramchuk A.O., Omelchuk S.T.* Improvement of the analytical control for application of pesticides in the system of chemical protection of chickpea

REVIEW

102 *Grin N.V., Burlaka Yu.B.* Etiology and pathogenesis of hypopharynx cancer: genetic and immunological factors of development. Review

114 *Marushko Y.V., Khomych O.V., Hyshchak T.V., Tarynska O.L., Shchegel G.O.* State of the art usage of radiological and acoustic methods for the diagnosis of pneumonia, including those caused by SARS-COV-2 virus, in children. Review

125 *Marakusyn D.I., Chernobay L.V., Vaschuk M.A., Isaieva I. M., Karmazina I.S., Mamon M.O., Holoivko M.D.* Physiological mechanism of fatigue. Review

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН В СУДИНАХ ГЕМО- ТА ЛІМФОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СКУПЧЕНИХ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ КЛУБОВОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ІНФУЗІЙНИХ РОЗЧИНІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ

Дзевульська І.В. <https://orcid.org/0000-0002-8043-6626>

Матківська Р.М. <https://orcid.org/0000-0002-4082-2899>

Синицька А.М. <https://orcid.org/0000-0001-6201-9194>

Присяжнюк Л.В. <https://orcid.org/0000-0003-3634-9194>

Янчишин А.В. <https://orcid.org/0000-0003-1598-8106>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

dzevulska@gmail.com

Актуальність. Термічний опік шкіри викликає розвиток опікової хвороби, головним чинником якої є ендогенна інтоксикація. Інфузія дезінтоксикаційних розчинів є обов'язковою складовою лікування опікової хвороби, адже корегує її перебіг та запобігає розвитку деяких стадій та ускладнень. З огляду на стадійність опікової хвороби та на різну спрямованість окремих ланок її патогенезу, інфузійна терапія повинна не тільки відновлювати водно-електролітний баланс та здійснювати детоксикацію організму, але сприяти нормалізації та стабілізації життєво важливих (у тому числі імунних) функцій організму.

Ціль: встановлення змін в судинах гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бляшок Пейера у опечених щурів на етапах розвитку опікової хвороби, за умов застосування внутрішньовенної інфузії ізотонічного розчину хлориду натрію та комбінованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та гекотону).

Матеріали та методи. Експеримент проводився на 72 білих щурах. Піддослідні тварини, були розділені на 4 групи (по 18 тварин у кожній групі). I, II, III – щури з опіковою травмою шкіри, яким проводили окрему інфузію ізотонічного розчину натрію хлориду (I), лактопротеїну з сорбітолом (II) та гекотону (III), у дозі 10 мл/кг. IV – інтактні тварини (контрольна група).

Моделювання опікової хвороби здійснювали шляхом нанесення опікової травми за допомогою прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок, які попередньо тримали упродовж 6 хвилин у воді з постійною температурою 100°C. Виконували гістологічне та електронномікроскопічне дослідження. Використовували світлову мікроскопію.

Результати. Внутрішньовенне введення застосованих інфузійних розчинів викликало різноманітні фазні зміни гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бляшок Пейера клубової кишки опечених щурів, в залежності від застосованого розчину. У разі інфузії опеченим щурам 0,9% розчину хлориду натрію поглиблювалися негативні наслідки опікової хвороби, які виявлялися пошкодженням стінки судин гемо- та лімфокапілярного русла, внаслідок чого виникало просякання плазми та лімфи через уражені ділянки у навколо судинний простір. Цей процес супроводжувався порушенням реологічних властивостей крові, формуванням набряків. Встановлений «мембранопластичний ефект» дії лактопротеїну з сорбітолом виявляв чіткі органоспецифічні риси, які мали прояви проникнення через пошкоджену стінку мікросудин електроннощільних просякнень, що сприяло суттєвому потовщенню базальної мембрани в стінці кровоносного капіляра та поступовому утворенні в її зоні колоподібної мембранної структури. Ця структура мінливої електронної щільності не тільки укріплювала судинну стінку, але й виконувала функцію зашморгу, сприяючи закриттю судинного просвіту у місці найбільшого пошкодження. Відмінність навколівузликівих лімфатичних капілярів у опечених щурів, яким була здійснена інфузія лактопротеїну з сорбітолом, характеризується феноменом «переповнення» лімфокапілярного русла клітинами, що перебувають у різному функціональному стані. У разі застосування інфузійного розчину гекотону не відмічався ефект «переповнення» лімфокапілярного русла, що вказує на адекватну реалізацію імунної функції імункомпетентних клітин.

Висновки. Внутрішньовенна інфузія колоїдно-гіперосмолярних розчинів викликає різні зміни гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бляшок Пейера. Інфузія розчину 0,9% розчину хлориду натрію призводить до поглиблення негативних наслідків опікової хвороби, що проявляються у вигляді пошкодження стінки судин гемо- та лімфокапілярного русла. Інфузія розчинів лактопротеїну з сорбітолом та гекотону сприяє збереженню судинної стінки навколівузликівих лімфатичних капілярів. При застосуванні розчину лактопротеїну з сорбітолом навколо пошкоджених судин кровоносних капілярів та венул формуються кільцеподібні мембранні утвори, що сприяють вибірковій рециркуляції структурно неушкоджених лімфоцитів.

Ключові слова: бляшки Пейера, гемомікроциркуляторне русло, опікова хвороба, дезінтоксикаційні розчини.

Актуальність. Загально визнано, що важкий термічний опік шкіри викликає розвиток опікової хвороби, головним чинником якої є ендогенна інтоксикація [1]. Інфузія дезінтоксикаційних розчинів вважається обов'язковою складовою лікування опікової хвороби,

адже корегує її перебіг, або навіть запобігає розвитку деяких стадій та ускладнень [2]. З огляду на стадійність опікової хвороби та на різну спрямованість окремих ланок її патогенезу, перед інфузійною терапією постає не тільки питання щодо відновлення водно-е-

лектролітного балансу та детоксикації організму, але й виникає чимало завдань щодо захисту неушкоджених та репарації ушкоджених клітин, нормалізації та стабілізації життєво важливих (у тому числі імунних) функцій організму. Загальні завдання інфузійної терапії за умов важких опіків складаються з компенсації об'єму втраченої рідини, підтримки об'єму циркулюючої крові на сталому рівні, гальмуванні розвитку набряків, нормалізації кислотно-лужної рівноваги, відновлення електролітів і білків крові, забезпечення ефективної перфузії органів і тканин [3].

Визнано, що у перші 8 годин після опікової травми з метою первинної ліквідації дефіциту циркулюючої крові, збільшення серцевого викиду, нормалізації показників кислотно-лужної рівноваги та ліквідації гіперкаліємії є підстави для застосування збалансованих препаратів електролітів (кристалоїдів) [4].

Однак, тривале використання лише кристалоїдних розчинів має низку небажаних наслідків: необхідність підвищення об'ємів інфузії, незначна тривалість циркуляторного ефекту, супутня клітинна дегідратація, суттєве перевантаження організму іонами натрію, збільшення набряків в зоні опіків, неефективне гальмування системного ацидозу, зниження рівня лактату в крові, падіння рівня іонів калію, негативна інотропна дія на міокард. З огляду на це, доцільність їхнього застосування ставиться під сумнів [5, 6]. Саме тому з року в рік помітно зростає тенденція переважаючого використання в трансфузійній терапії колоїдних розчинів, серед яких є синтетичні колоїди на основі желатину, декстранів та гідроксиетильованого крохмалю (HES).

Серед існуючих фармацевтичних препаратів, що впроваджено для інфузійної терапії опікової хвороби, за своєю дією вигідно вирізняються комбіновані гіперосмолярні розчини.

Привабливою особливістю характеризується плазмозамінюючий розчин комплексної дії лактопротеїну з сорбітолом.

В останні роки замість препаратів на основі нативних протеїнів почали широко використовувати кровозамінники гемодинамічної дії на основі HES 7 першої та другої генерації [7, 8]. Доведений позитивний ефект впливу розчинів HES7 на показники центральної гемодинаміки, з'ясована здатність зв'язувати рідину та утримувати її в судинному руслі, показані їхні можливості швидкого та ефективного відновлення реологічних властивостей крові та нормалізації мікроциркуляції. Ці розчини здатні підвищувати транспортування кисню, перешкоджати перекисному окисленню ліпідів та розвитку синдрому поліорганної недостатності. З появою інфузійних розчинів на основі HES третьої генерації ця група препаратів стала предметом інтенсивних наукових досліджень [9, 10], красномовним свідченням результатів яких є назва наукового огляду M. Westphal et al.

«Hydroxyethyl starches: different products – different effects» [9].

До розчинів на базі HES третьої генерації належить розчин «Гекотон®», який на стадії доклінічного випробування мав робочу назву «HAES-LX-5%». Ідея створення гекотону полягала у поєднанні найліпших властивостей збалансованого гіпертонічного кристалоїда і сучасного колоїда (HES 130/0.4 у зменшеній концентрації, що дорівнює 5 %).

Зростання інтересу дослідників до структури і функції бляшок Пейєра обумовлене, в першу чергу, запитами практичної медицини і, зокрема, зацікавленістю щодо з'ясування конкретних механізмів ініціації розвитку певного інфекційного процесу та мукозальної імунної відповіді на нього. Що стосується патогенезу опікової хвороби, то визначення структурної перебудови та змін функції бляшок Пейєра, за зазначених вище обставин, набуває особливого значення.

Ціль: встановлення реактивних та деструктивних змін гемо- та лімфомікроциркуляторного русла в бляшках Пейєра (скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки) щурів на етапах розвитку опікової хвороби, викликаній експериментальною термічною опіковою травмою шкіри, за умов застосування внутрішньовенної інфузії ізотонічного розчину хлориду натрію та комбінованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Зміни в судинах гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бляшок Пейєра у щурів з експериментальною опіковою хворобою за умов інфузії дезінтоксикаційних розчинів (ізотонічного розчину натрію хлориду та досліджених колоїдно-гіперосмолярних розчинів) були досліджені на 72 білих щурах-самцях масою 160-200 г віком 6 місяців.

Утримання тварин, а також експеримент з нанесенням термічної опікової травми шкіри, інфузією дезінтоксикаційних розчинів та рештою пов'язаних з цим маніпуляцій здійснювали у повній відповідності до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), з дотриманням усіх рекомендацій «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», положень методичних рекомендацій «Доклінічного вивчення лікарських засобів».

Піддослідні тварини, матеріал від яких підлягав гістологічному та електронномікроскопічному дослідженню були розділені на 4 групи (по 18 тварин у кожній групі): I, II, III – щури з опіковою травмою шкіри, яким проводили окрему інфузію ізотонічного розчину натрію хлориду, лактопротеїну з сорбітолом

та HAES-LX-5%, у кожному випадку у дозі 10 мл/кг; IV – інтактні тварини (контрольна група).

Моделювання опікової хвороби здійснювали шляхом нанесення опікової травми за допомогою прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку, площа поверхні кожної пластинки складала 13,86 см²), які попередньо тримали упродовж 6 хвилин у воді з постійною температурою 100°C. Оцінку тяжкості ураження при опіковій травмі здійснювали за індексом тяжкості ушкодження, який враховує параметри площі та глибини опіків. Результати обрахунку показали, що загальна площа опіку шкіри у щурів дорівнювала 21-23% поверхні тіла, експозиція становила 10 с, що є цілком достатнім для формування опіку II-III ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості.

Одержаний матеріал обробляли за загальноприйнятими методами.

Для гістологічного дослідження бляшки Пейєра фіксували 10% розчином нейтрального формальдегіду з наступним промиванням матеріалу. Потім зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та проводили через хлороформ і заливали у парапласт. З матеріалу формували зрізи тканин товщиною 7-8 мкм, які готували на ротаційному мікромомі. Отримані зрізи розміщували на склі, забарвлювали гематоксиліном-еозином та заливали канадським бальзамом. Гістологічне дослідження бляшок Пейєра тонкої кишки щурів виконували на мікроскопі Olympus BX51.

Для електронномікроскопічного дослідження шматочки бляшок Пейєра розрізали на блоки з наступною фіксацією в розчині глутарового альдегіду. Потім матеріал заливали в суміш аралдиту з епоксидними смолами.

Напівтонкі та ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі LKB-3 (Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім та метиленовим синім-азур II. Ультратонкі зрізи контрастували на мідних опорних сіточках ураніацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом. Фотографування під час проведення електронномікроскопічного дослідження здійснювали на електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У щурів з опіковою травмою шкіри, в залежності від виду застосованих розчинів, внаслідок лікування інфузійною терапією виявлений комплекс судинних післяопікових порушень. Це проявлялось у вигляді фазних змін гемо- та лімфомікроциркуляторного русла скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки (бляшок Пейєра), в судинах яких здійснюється рециркуляція та трансмуральна міграція імунокомпетентних клітин, що є необхідною умовою для реалізації імунної функції. У опечених щурів, яким була здійс-

нена інфузія 0,9% розчину хлориду натрію, встановлені ультраструктурні прояви гемолізу еритроцитів і адсорбції білків плазми на еритроцитах та люменальній поверхні ендотеліоцитів кровоносних капілярів і венул, ознаки сладж-синдрому (утворення еритроцитарних агрегатів високої щільності). Наслідками зміни суспензійної стабільності формених елементів та в'язкості крові є порушення її реологічних властивостей, які стають важливою патогенетичною ланкою в ланцюзі типових розладів гемомікроциркуляції, включаючи порушення перфузії крові через кровоносні мікросудини. Підвищення в'язкості плазми крові, морфологічною ознакою якого є повне заповнення просвіту кровоносних мікросудин дрібногранулярним вмістом середньої електронної щільності, визначене неодмінною складовою опікової патології [2]. За цих обставин застосована внутрішньовенна інфузія гіперосмолярних колоїдних розчинів (лактопротеїну з сорбітолом та гекотону) має безумовні переваги, виявом яких є відсутність (або пригнічення прояву) згаданих вище ознак реологічних розладів в системі мікроциркуляції у скупчених лімфоїдних вузликах.

На відміну від гекотону, структурне віддзеркалення ангіо- та цитопротекторної дії лактопротеїну з сорбітолом є більш виразним [11].

Інфузія досліджених гіперосмолярних розчинів сприяє збереженню звичайної будови навколівузликів лімфатичних капілярів. Варто зазначити, що лімфатичні капіляри лімфоїдних органів є шляхами, що забезпечують рециркуляцію лімфоцитів і міграцію в регіональні лімфатичні вузли дендритних клітин, такі їхні реактивні зміни є визначальними за наслідками. Інфузія обпеченим щурам розчину гекотону не супроводжується проявами феномену «переповнення», що неодмінно являється позитивною ознакою переваги його дії. Порушення за умов інфузії 0,9 % розчину хлориду натрію в скупчених лімфоїдних вузликах опечених щурів полягають у звуженні просвіту артеріол, порушенні структурної цілісності судинної стінки кровоносних капілярів, розширених і заповнених еритроцитарними масами венул, цілісності судинної стінки та різкому розширенні просвіту лімфатичних капілярів. У опечених щурів, яким була здійснена інфузія 0,9 % розчину хлориду натрію, встановлені ультраструктурні прояви гемолізу еритроцитів та адсорбції білків плазми на еритроцитах та люменальній поверхні ендотеліоцитів кровоносних капілярів і венул, ознаки сладж-синдрому (утворення еритроцитарних агрегатів високої щільності).

На відміну від робіт інших дослідників [12, 13, 14, 15] щодо морфологічних та біохімічних післяопікових перетворень в бляшках Пейєра, ми дослідили компенсаторно-приспосувальні реакції в скупчених лімфоїдних вузликах упродовж набагато більш тривалого часу після опіку і пересвідчилися, що структурні зрушення в них не обмежуються тільки змінами фолі-

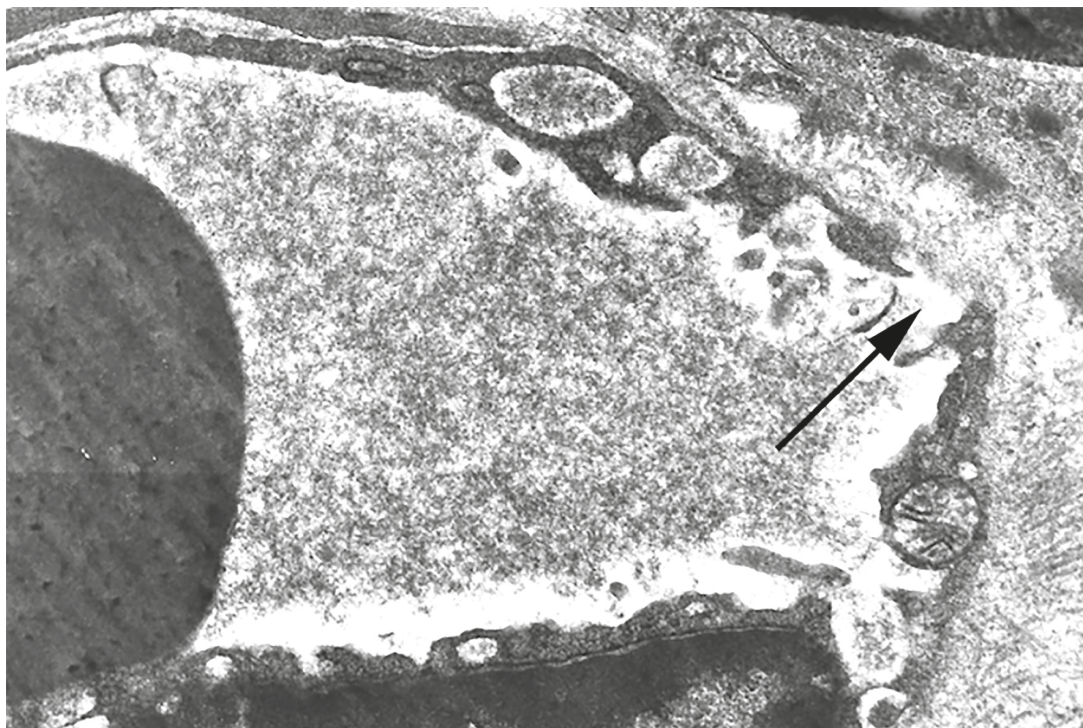


Рис. 1. Ультраструктурні зміни кровоносного капіляра бляшки Пейсера за умов інфузії 0,9% розчину хлориду натрію через 3 доби експерименту. Наявний наскрізний дефект (←) ендотелію, порушення цілісності та ультраструктури основної перетинки.

Примітки: 1 – просвіт гемокapіляра; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – еритроцит у просвіті гемокapіляра; 4 – без'ядерна зона ендотеліоцита; 5 – мітохондрія у без'ядерній зоні ендотеліоцита; 6 – навколосудинний (периваскулярний) інтерстиційний простір; 7 – колагенові волокна; ← структурно порушена основна перетинка гемокapіляра. Електронна мікрофотографія. Зб. 30000.

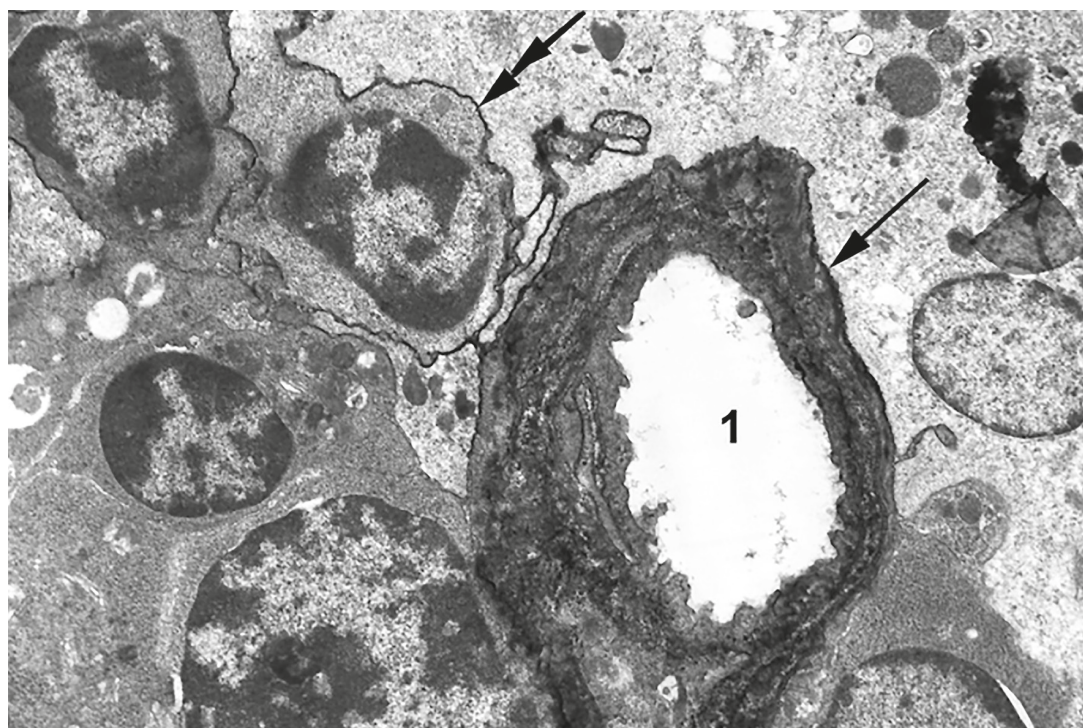


Рис. 2. Трансформаційні зміни судинної стінки кровоносного капіляра (перетворення її на інтегрований багатокомпонентний конгломерат) у бляшці Пейсера, за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом через 7 діб експерименту. Одиною стрілкою позначена трансформована стінка кровоносного капіляра. Подвійною стрілкою позначена хвиляста лінія електроннощільної облямівки.

Примітки: 1 – просвіт кровоносного капіляра; 2 – без'ядерна зона ендотелію; 3 – ядра лімфоцитів; 4 – ознаки аутофагії у клітинах інтерстицію. Електронна мікрофотографія. Зб. 8 000.

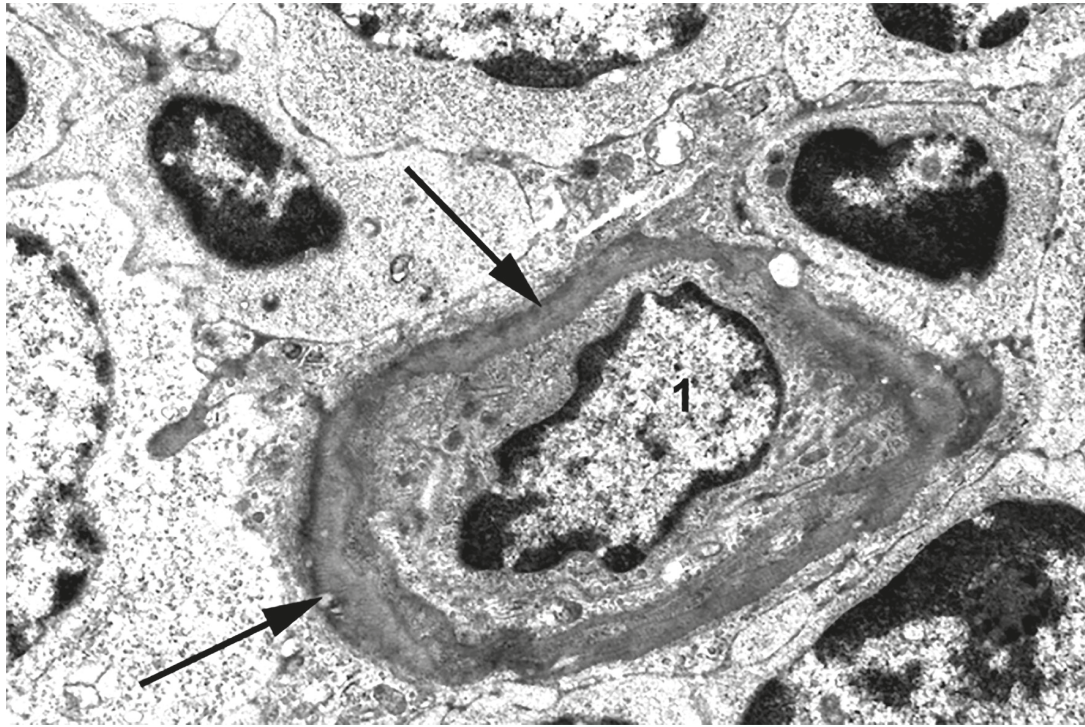


Рис. 4. Феномен “переповнення” судинного просвіту навколовузликового лімфатичного капіляра бляшки Пейсера за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом через 21 добу експерименту.

Примітки: 1 – ядро ендотеліоцита лімфатичного капіляра; 2 – мереживо прилеглих колагенових волокон; 3 – клітина у стані мітозу; 4 – апоптотне тільце.
Електронна мікрофотографія. Зб. 7000.

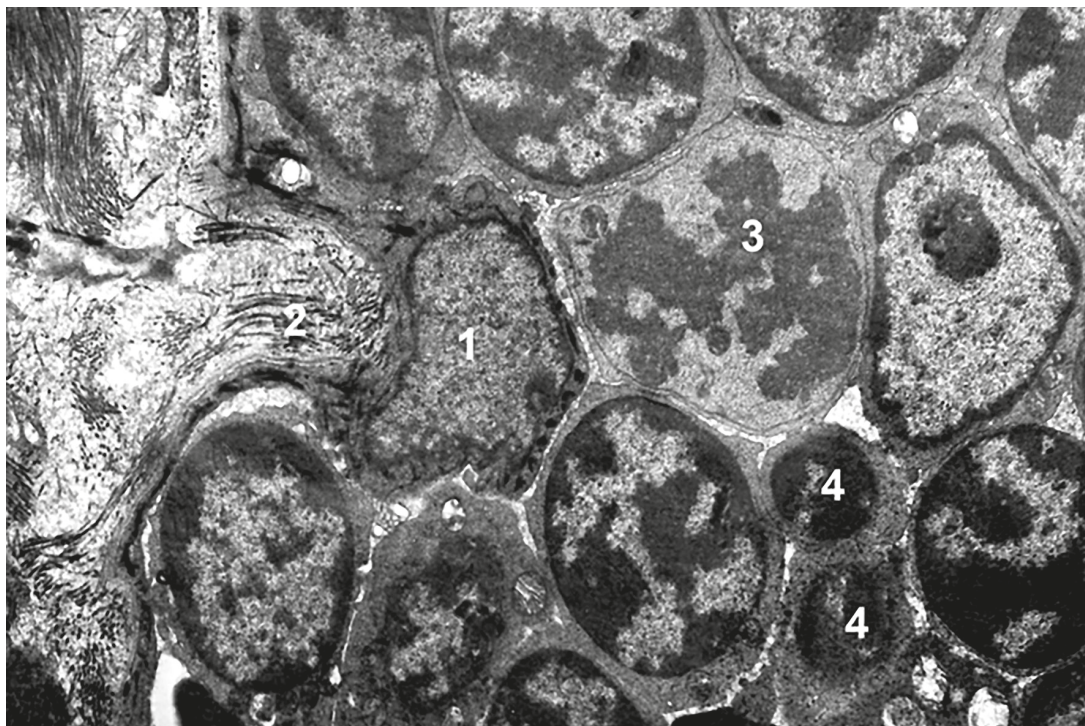


Рис. 3. Локальне просякнення електроннощільного матеріалу (позначене стрілками) навколо кровоносного капіляру із замкненим судинним просвітом у бляшці Пейсера за умов інфузії лактопротеїну з сорбітолом через 7 днів експерименту.

Примітки: 1 – ядро ендотеліоцита; 2 – ендотеліоцит.
Електронна мікрофотографія. Зб. 15 000.

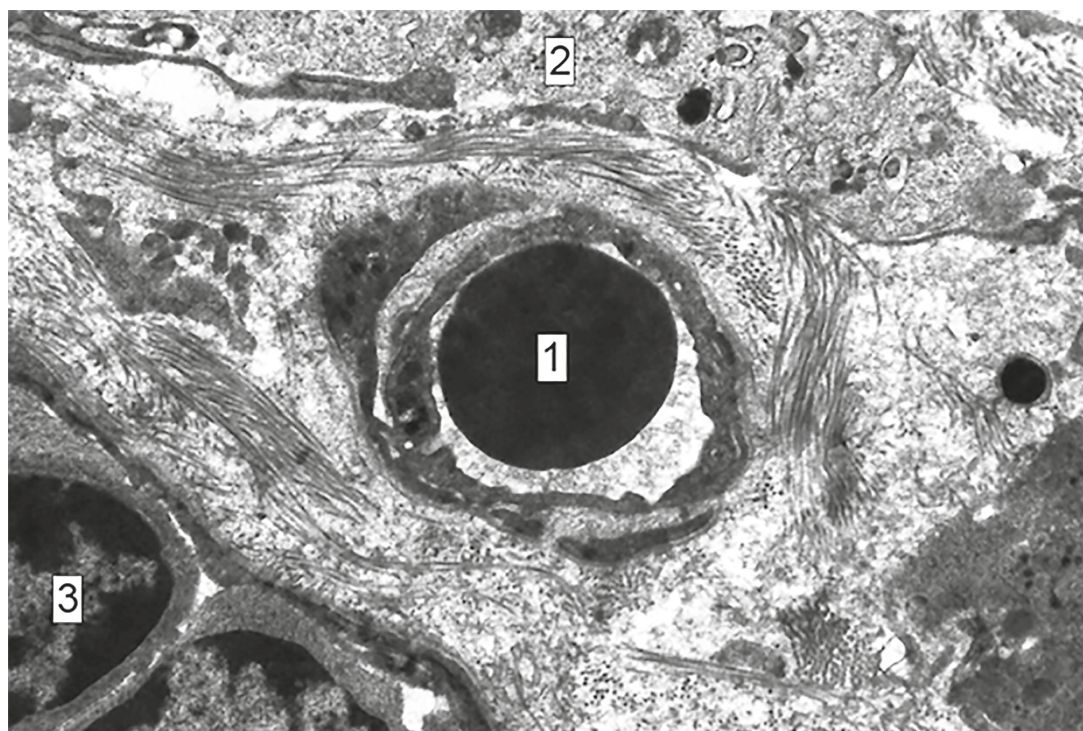


Рис. 5. Кровоносний капіляр та навколоузликівий лімфатичний капіляр біляшки Пейєра, за умов інфузії розчину гекотону через 21 добу експерименту.

Примітки: 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра; 2 – цитоплазма макрофагоцита; 3 – лімфоцит у просвіті лімфатичного капіляра.
Електронна мікрофотографія. Зб. 7 000.

куло-асоційованого епітелію та імуніцитів. Зокрема, нами виявлений комплекс судинних післяопікових порушень. Як відомо, судини гемо- та лімфомікроциркуляторного русла відіграють провідну роль в процесі рециркуляції лімфоцитів «феномен хомінгу» – це процес неперервного переміщення цих клітин з органів в лімфо- і кровообіг і повернення назад. Лімфоцити, що заселяють периферичні органи та тканини, куди вони мігрують кровоносними судинами після дозрівання та відбору в центральних органах імунної системи, не є осілими. Переміщення здійснюється між двома рідинами внутрішнього середовища – кров'ю та лімфою. Процес переміщення лімфоцитів з кров'яного русла в органи та тканини, а звідти в кровоток називається рециркуляцією, а власне лімфоцити – рециркулюючими. Наслідки опікової хвороби, проявом якої є ендогенна інтоксикація, мають, безумовно, негативний вплив на стан судин гемо- та лімфомікроциркуляторного русла. Вони знаходять відображення у таких проявах, як збільшення проникності судинної стінки, розвиток синдрому гіпоперфузії органів і тканин, плазмовтрата, секвестрація клітинних елементів крові в обпечених тканинах, які призводять до зменшення об'єму циркулюючої крові, згущення, погіршення реологічних властивостей крові. В уражених тканинах утворюється велика кількість біологічно активних речовин (серотонін,

брадикініни) при одночасному блокуванні відтоку лімфи, що зумовлює набряк тканин і також зменшення об'єму циркулюючої крові. Одночасно зі втратою плазми знижується рівень циркулюючих білків крові. У разі застосування інфузії опеченим щурам 0,9 % розчину хлориду натрію спостерігалися виразні зміни судин гемо- та лімфомікроциркуляторного русла, які проявлялися порушенням цілісності судинної стінки (рис. 1). Порушення цілісності судинної стінки кровоносних капілярів і венул за зазначених вище умов обумовлено: розширенням міжендотеліальних щілин; локальною руйнацією основної перетинки; некрозом окремих ендотеліоцитів.

У разі застосування інфузійного розчину лактопротеїну з сорбітолом нами спостерігався так званий «мембранопластичний ефект дії», який проявлявся у проникненні через пошкоджену стінку мікросудин електроннощільних просякнень які сприяють суттєвому потовщенню основної перетинки в стінці кровоносного капіляра і поступовому утворенні в її зоні колоподібної мембранної структури мінливої електронної щільності, яка не тільки укріплює судинну стінку, але й діє як зашморг, сприяючи закриттю судинного просвіту (рис. 2).

Такі реактивні зміни варто інтерпретувати як компенсаторно-приспосувальні (з огляду на покращення бар'єрної функції судинної стінки та «виклю-

чення» найбільш ушкоджених кровоносних капілярів із загального кровотоку) (рис. 3). Відмінністю навколівузликівих лімфатичних капілярів піддослідних тварин, обумовленою дією лактопротейну з сорбітолом, є те, що вони зазвичай вщерть заповнені (феномен «переповнення») лімфоцитами звичайної будови, дендритними клітинами, клітинами у стані мітозу, апоптозними клітинами, апоптозними тільцями (рис. 4). Зважаючи на те, що ці клітини щільно прилягають одна до одної в судинах лімфокапілярів, можна зробити висновок про реалізацію двох несумісних процесів: транспортування до регіонарних лімфатичних вузлів імунокомпетентних клітин, які здійснюють імунні функції, та очищення лімфоїдних вузликів від апоптозних клітин та апоптозних тілець. У разі застосування інфузійного розчину гекотону нами не відмічався ефект «переповнення» лімфокапілярного русла, що вказує на адекватну реалізацію імунної функції імунокомпетентних клітин та позитивний ефект на стан судин лімфокапілярного русла (рис. 5). Що стосується лімфомікроциркуляторного русла, то застосований нами розчин лактопротейну з сорбітолом викликав ефект «переповнення» лімфокапілярного русла різноманітними імунокомпетентними клітинами у різних функціональних станах. Такий ефект є неоднозначним з точки зору виконання імунної функції.

ВИСНОВКИ

Внутрішньовенна інфузія колоїдно-гіперосмолярних розчинів викликає різні зміни гемо- та лімфомікроциркуляторного русла бляшок Пейєра. Інфузія розчину 0,9% розчину хлориду натрію призводить до поглиблення негативних наслідків опікової хвороби, що проявляються у вигляді пошкодження стінки судин гемо- та лімфокапілярного русла. Інфузія розчинів лактопротейну з сорбітолом та гекотону сприяє збереженню судинної стінки навколівузликівих лімфатичних капілярів. При застосуванні розчину лактопротейну з сорбітолом навколо пошкоджених судин кровоносних капілярів та венул формуються кільцеподібні мембранні утвори, що сприяють вибірковій рециркуляції структурно неушкоджених лімфоцитів.

REFERENCES

1. Vladyka A.S., Suslov V.V., Tarabrin O.A. [Infusion therapy for critical conditions]. Kyiv: Logos. 2010, 276 p. [in Russian]
View at: URL: <https://www.twirpx.com/file/1114390/>
2. Netyukhailo LG, Kharchenko SV, Kostenko AG. [Pathogenesis of burn disease (in 2 parts)]. The world of medicine and biology. 2011; 1: 127-35. [in Ukrainian]
View at: Publisher site: <https://womab.com.ua/ua/smb-2011-01/1209>
Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/patogenez-opikovoyi-hvorobi-chastina-1>

<https://cyberleninka.ru/article/npatogenez-opikovoyi-hvorobi-chastina-2>

3. Kovalenko O.M. Issues of infusion therapy of burn shock. Surgery of Ukraine. 2014; 2: 13-9.
View at: Publisher site: http://surgukraine.vitapol.com.ua/svzhij_nomer.php?nid=50
URL: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=U-JRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21ST-N=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILE=&2_S21STR=KhU_2014_2_4
4. Mitra B., Fitzgerald M., Cameron P., Cleland H. Fluid resuscitation in major burns. ANZ J Surg. 2006; 76(1-2): 35-8. <https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2006.03641.x>
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1445-2197.2006.03641.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16483293/>
5. Traverso L.W., Hollenbach S.J., Bolin R.B., Langford M.J., DeGuzman L.R. Fluid resuscitation after an otherwise fatal burn shock: II. Colloid solutions. J Trauma Injury Infect. Crit. Care. 1986; 26(2): 176-82. <https://doi.org/10.1097/00005373-198602000-00015>
View at: Publisher site: https://journals.lww.com/jtrauma/Abstract/1986/02000/Fluid_Resuscitation_after_an_Otherwise_Fatal.15.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3080603/>
6. Boldt J. Saline versus balanced hydroxyethyl starch: does it matter? Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine. 2007; 9(3): 189-97. <https://doi.org/10.1111/j.1778-428X.2007.00073.x>
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1778-428X.2007.00073.x>
7. Jungheinrich C. The starch family: Are they all equal? Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydroxyethyl starches. Transfus Altern. Transfus Med. 2007; 9: 152-63. <https://doi.org/10.1111/j.1778-428X.2007.00070.x>
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1778-428X.2007.00070.x>
8. Yuruk K., Almac E., Ince C. Hydroxyethyl starch solutions and their effect on the microcirculation and tissue oxygenation. Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine. 2007; 9(3): 164-72. <https://doi.org/10.1111/j.1778-428X.2007.00076.x>
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1778-428X.2007.00076.x>
9. Westphal M., James M.F., Kozek-Langenecker S. Hydroxyethyl starches: different products – different effects. Anesthesiology. 2009; 111: 187-202. <https://doi.org/10.1097/aln.0b013e3181a7ec82>
View at: Publisher site: <https://pubs.asahq.org/anesthesiology/article/111/1/187/9505/Hydroxyethyl-Starches-Different-Products-Different>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19512862/>
10. Aubron C., Bellomo R. Infusion of hydroxyethyl starch-containing fluids. Minerva Anesthesiol. 2013; 79(9): 1088-92.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24042155/>

11. Gunas IV, Dzevulska IV, Cherkasov EV, Kovalchuk OI Membrane-plastic effect of lactoprotein-C on the structure of the organs of the neuroimmunoendocrine system under the conditions of infusion therapy of burn disease. 2015; 3: 36-43.
View at: Publisher site: http://surgukraine.vitapol.com.ua/svizhij_nomer.php?nid=55
Irbis-nbuв: http://www.irbis-nbuв.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuв/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=U-JRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21ST-N=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=KhU_2015_3_9
12. Fan J., Meng Q., Guo G. Effects of enteral nutrition supplementeal with glutamine on intestinal mucosal immunity in burned mice. Nutrition. 2009; 25(2): 233-9. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.08.009>
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0899900708003857?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18977117/>
13. Fan J., Xie Y., Li X. The influence of Peyer's patch apoptosis on intestinal mucosal immunity in burned mice. Burns. 2009; 35(5): 687-94. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2008.10.013>
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417908003501?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19269747/>
14. Fan J., Meng Q., Guo G. Effects of early enteral nutrition supplemented with arginine on intestinal mucosal immunity in severely burned mice. Clin Nutr. 2010; 29(1): 124-30. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2009.07.005>
View at: Publisher site: [https://www.clinicalnutrition-journal.com/article/S0261-5614\(09\)00153-8/fulltext](https://www.clinicalnutrition-journal.com/article/S0261-5614(09)00153-8/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19783080/>
15. Zhang Ch., Lin J., Ma M., Zhang Sh. The influence of HIF-1 α expression on apoptosis and number of T lymphocyte in Peyer's patches after burn with delayed fluid resuscitation in rats at plateau. Surgical Science. 2016; 7: 390-9.
View at: Research Gate: https://www.researchgate.net/publication/308080320_The_Influence_of_HIF-1_alpha_Expression_on_Apoptosis_and_Number_of_T_Lymphocyte_in_Peyer's_Patches_after_Burn_with_Delayed_Fluid_Resuscitation_in_Rats_at_Plateau

Article history
Received: 05.04.2021
Revision requested: 20.04.2021
Revision received: 27.04.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ В СОСУДАХ ГЕМО- И ЛИМФОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СКОПЛЕНИЙ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ ПОДВЗДОВШНОЙ КИШКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Дзевульська І.В., Матківська Р.М., Синицька А.М., Присяжнюк Л.В., Янчишин А.В.

Національний медичинський університет імені А.А. Богомольця, Київ, Україна

dzevulska@gmail.com

Актуальность. Термический ожог кожи вызывает развитие ожоговой болезни, главным фактором которой является эндогенная интоксикация. Инфузия дезинтоксикационных растворов является обязательной составляющей лечения ожоговой болезни, так как корректирует ее ход и предотвращает развитие некоторых стадий и осложнений. Учитывая стадийность ожоговой болезни и разную направленность отдельных звеньев ее патогенеза, инфузионная терапия должна не только восстанавливать водно-электролитный баланс и осуществлять детоксикацию организма, но способствовать нормализации и стабилизации жизненно важных (в том числе иммунных) функций организма.

Цель: установление изменений в сосудах гемо- и лимфомикроциркуляторного русла бляшек Пейера у крыс с ожогами на этапах развития ожоговой болезни, при условии применения внутривенной инфузии изотонического раствора хлорида натрия и комбинированных коллоидно-гиперосмолярных растворов (лактопротеин с сорбитолом и гекотон).

Материалы и методы. Эксперимент проводился на 72 белых крысах. Подопытные животные были разделены на 4 группы (по 18 животных в каждой группе). I, II, III – крысы с ожоговой травмой кожи, которым проводили отдельную инфузию изотонического раствора натрия хлорида (I), лактопротеин с сорбитолом (II) и гекотон (III) в дозе 10 мл/кг. IV – интактные животные (контрольная группа).

Моделирование ожоговой болезни осуществляли путем нанесения ожоговой травмы с помощью приложения к боковым поверхностям туловища животных четырех медных пластинок, которые предварительно держали в течение 6 минут в воде с постоянной температурой 100 °С. Выполняли гистологическое и электронномикроскопические исследования. Использовали световую микроскопию.

Результаты. Введение примененных инфузионных растворов вызвало различные фазные изменения гемо- и лимфомикроциркуляторного русла бляшек Пейера подвздошной кишки крыс с ожогами, в зависимости от примененного раствора. В случае инфузии крысам 0,9% раствора хлорида натрия углублялись негативные последствия ожоговой болезни, которые проявлялись повреждением стенки сосудов гемо- и лимфокапиллярного русла, вследствие чего возникало пропитывание плазмы и лимфы через пораженные участки в околососудистое пространство. Этот процесс сопровождался нарушением реологических свойств крови, формированием отеков. Обнаруженный «мембранопластический эффект» действия лактопротеина с сорбитолом про-

являл четкие органоспецифические черты, которые выражались в проникновении через поврежденную стенку микрососудов электронноплотных пропиток, что способствовало существенному утолщению базальной мембраны в стенке кровеносного капилляра и постепенному образованию в ее зоне кругообразной мембранной структуры. Эта структура меняющейся электронной плотности не только укрепляла сосудистую стенку, но и выполняла функцию петли, способствуя закрытию сосудистого просвета в месте наибольшего повреждения. Отличие околоузелковых лимфатических капилляров у крыс, которым была осуществлена инфузия лактопротеина с сорбитолом, характеризуется феноменом «переполнения» лимфокапиллярного русла клетками, находящимися в разном функциональном состоянии. В случае применения инфузионных растворов гектона не отмечался эффект «переполнения» лимфокапиллярного русла, что указывает на адекватную реализацию иммунной функции иммунокомпетентных клеток.

Выводы. Инфузия коллоидно-гиперосмолярных растворов вызывает различные изменения гемо- и лимфомикроциркуляторного русла бляшек Пейера. Инфузия раствора 0,9% раствора хлорида натрия приводит к углублению негативных последствий ожоговой болезни, которые проявляются в виде повреждения стенки сосудов гемо- и лимфокапиллярного русла. Инфузия растворов лактопротеина с сорбитолом и гектона способствует сохранению сосудистой стенки околоузелковых лимфатических капилляров. При применении раствора лактопротеина с сорбитолом вокруг поврежденных сосудов кровеносных капилляров и венул формируются кольцеобразные мембранные образования, способствующие выборочной рециркуляции структурно неповрежденных лимфоцитов.

Ключевые слова: бляшки Пейера, гемомикроциркуляторное русло, ожоговая болезнь, дезинтоксикационные растворы.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CHANGES IN HEMO - AND LYMPHOMICROCIRCULATORY VESSELS OF ILEUM ACCUMULATED LYMPHOID NODES OF RATS IN THE CASE OF APPLICATION OF INFUSION SOLUTIONS IN EXPERIMENTAL BURN DISEASE

Dzevulska I.V., Matkivska R.M., Sinitska A.M., Prysiazhnjuk L.V., Yanchyshyn A.Y.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

dzevulska@gmail.com

Relevance. Thermal burns of the skin cause the development of burns, the main factor of which is endogenous intoxication. The infusion of detoxification solutions is a mandatory component of the treatment of burns, as it corrects its course and prevents the development of certain stages and complications. According to the stage of the burn disease and the different direction of its links in its pathogenesis, infusion therapy should not only restore water-electrolyte balance and detoxify the body, but also contribute to the normalization and stabilization of vital (including immune) body functions.

Objective: study of changes in the vessels of the hemo- and lymphomicrocirculatory system of Peyer's patches in burnt rats at the stages of burn disease, under conditions of intravenous infusion of isotonic sodium chloride solution and combined colloidal-hyperosmolar solutions (lactoprotein and sorbitolum).

Materials and methods. The experiment was performed on 72 white rats. Experimental animals were divided into 4 groups (18 animals in each group). I, II, III - rats with skin burn trauma, which received a separate infusion of isotonic sodium chloride (I), lactoprotein with sorbitol (II) and hecoton (III), at a dose of 10 ml / kg. IV - intact animals (control group).

Simulation of burn disease was performed by inflicting burn injury by applying to the lateral surfaces of the body of animals four copper plates, which were previously kept for 6 minutes in water with a constant temperature of 100 ° C. Histological and electron microscopic examination were performed. Light microscopy was used.

Results. Intravenous administration of the applied infusion solutions caused various phase changes of the hemo- and lymphomicrocirculatory tract of Peyer's patches of the ileum of burnt rats, depending on the applied solution. In the case of infusion of burnt rats with 0.9% sodium chloride solution, the negative effects of burn disease were exacerbated, which were manifested by damage to the vascular wall of the hemo- and lymphocapillary channels, resulting in plasma and lymph seepage through the affected areas into the perivascular space. This process was accompanied by a violation of the rheological properties of blood, the formation of edema. The established "membrane-plastic effect" of lactoprotein with sorbitol revealed clear organ-specific features, which had manifestations of penetration through the damaged wall of microvascular electron-dense impregnations, which contributed to a significant thickening of the basement membrane in the wall of the blood capillary formation and its gradual formation of rounded membranous structure. This structure of variable electron density not only strengthened the vascular wall, but also served as a closure, helping to close the vascular lumen at the site of largest damage. The difference between the perinodal lymphatic capillaries in burnt rats infused with lactoprotein and sorbitol is characterized by the phenomenon of "overflow" of the lymphocapillary channel with cells in different functional states. In the case of infusion of hecoton solution, the effect of "overflow" of the lymphocapillary channel was not observed, which indicates adequate implementation of the immune function of immunocompetent cells.

Conclusions. Intravenous infusion of colloid-hyperosmolar solutions causes various changes in the hemo- and lymphomicrocirculatory tract of Peyer's patches. Infusion of a 0.9% sodium chloride solution leads to a deepening of the negative consequences of burn disease, which manifests itself in the form of damage to the vascular wall of the hemo- and lymphocapillary channels. Infusion of solutions of lactoprotein with sorbitol and hecoton helps to preserve the vascular wall of the nodular lymphatic capillaries. When a solution of lactoprotein with sorbitol is applied around the damaged vessels of blood capillaries and venules, annular membrane formations are formed, which promote selective recirculation of structurally intact lymphocytes.

Keywords: Peyer's patches, hemomicrocirculatory tract, burn disease, detoxification solutions.

ВПЛИВ ФЕРМЕНТ-ВМІСНИХ ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК НА АКТИВНІСТЬ MMP-2 ПІД ЧАС ЗАГОЄННЯ ОПІКОВОЇ РАНИ У ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ

Мироненко О.І. <https://orcid.org/0000-0001-5221-7218>

Панова Т.І. <https://orcid.org/0000-0002-0298-802X>

Натрус Л.В. <https://orcid.org/0000-0002-0416-2600>

Верьовка С.В. <https://orcid.org/0000-0002-3578-7996>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

om.ua.md@gmail.com

Актуальність. Синдром діабетичної стопи є поширеним ускладненням, що характеризується розвитком хронічних виразок. Серед механізмів порушення загоєння діабетичної рани провідну роль відіграє порушення гомеостазу позаклітинного матриксу: хронічна гіперглікемія, з одного боку, сприяє утворенню так званих advanced glycation end products (AGEs), що опосередковують прозапальну активацію імунних клітин, а з іншого боку, пригнічує проліферацію та синтетичну функцію фібробластів, порушує міграцію кератиноцитів та ендотеліоцитів. Тому елімінація AGEs є патогенетично обґрунтованим методом лікування хронічних виразок при цукровому діабеті. З цією метою було розроблено композит, що складався з поліспецифічних мікробних протеїназ, фіксованих на полімерних пористих наночастинках. Прогностичним індикатором загоєння хронічної рани було обрано активність матриксної металопротеїнази-2 (MMP-2).

Ціль: вивчити активність MMP-2 у тканинах опікової рани щурів з модельованим цукровим діабетом під впливом фермент-вмісних наночастинок.

Матеріали та методи. У досліді було використано $n=48$ щурів лінії Wistar. Цукровий діабет було індуковано введенням 50 мг/кг стрептозотоцину. Для моделювання рани у щурів з гіперглікемією використали стандартну тваринну модель термічного опіку за Walker та Mason, з модифікаціями. Термічне ураження відповідало II-IIIА ступеню опіку, складало $19\pm 1,6\%$ від загальної площі шкіри тварин. Щури були розподілені на дві групи по 24 тварини в кожній: група ЦД не отримувала лікування, а щурам з групи ЦД+Л щодня на опікову рану наносили композит з фермент-вмісними наночастинками. Тварин виводили з експерименту на 3, 7, 14 та 21 добу спостереження. Активність MMP-2 у тканинах опікової рани діабетичних щурів досліджували методом желатинової зимографії, виражали в умовних одиницях (AU). Статистичну обробку даних виконували у програмному пакеті SPSS Statistics Base, v.22 за допомогою критерію Стьюдента для парних порівнянь та критерію Шеффе – для множинних порівнянь.

Результати. Рівень активності MMP-2 у тканинах опікової рани щурів у групі ЦД на 3 добу дослідження складав $4,9\pm 1,3$ AU, зростав на 7 добу ($p < 0,01$) та досягав максимального рівня $52,55\pm 3,06$ AU на 14 добу ($p < 0,01$). На 21 добу активність досліджуваного ферменту зменшувалася на 8,5 AU ($p < 0,01$) відносно 14 доби.

На 3 добу дослідження у групі ЦД+Л активність MMP-2 у діабетичній рані становила $15,93\pm 2,68$ AU і поступово зменшувалася ($p < 0,01$) до $5,67\pm 2,67$ AU на 14 добу. Проте на 21 добу спостерігався другий пік ($p < 0,01$) активності досліджуваного ферменту – $33,64\pm 4,1$ AU.

При порівнянні двох груп (ЦД та ЦД+Л) на 3 добу дослідження активність MMP-2 в тканинах опікової рани щурів у групі ЦД+Л утричі перевищувала ($p < 0,01$) показник у групі ЦД. Але вже з 7 доби активність MMP-2 у групі ЦД була вищою за показник групи ЦД+Т у півтора рази, а на 14 добу – в 10 разів ($p < 0,01$). На 21 добу дослідження рівень MMP-2 у групі ЦД залишався вищим ($p < 0,01$), ніж у групі ЦД+Т.

Висновки. Застосування фермент-вмісних наночастинок забезпечує ефективну деградацію глікозильованих компонентів позаклітинного матриксу, сприяючи тим самим зменшенню запального процесу, зниженню активності MMP-2 та сприяє загоєнню опікової рани у щурів із стрептозоточин-індукованим діабетом.

Ключові слова: цукровий діабет, хронічна рана, MMP-2, AGEs, наночастинки.

Актуальність. Хоча загальна поширеність синдрому діабетичної стопи у популяції складає лише 6,3%, він залишається серйозною медико-соціальною проблемою, адже кожні 30 секунд у світі виконують ампутацію нижньої кінцівки через ускладнення діабету [1].

Діабетична виразка характеризується хронічним перебігом зі значним порушенням стадійності процесу загоєння та розвитком персистуючого запалення у рані [2]. Серед механізмів, що задіяні в постійній прозапальній активації імунних клітин у гіперглікемічному мікросередовищі, провідну роль відіграє порушений гомеостаз позаклітинного матриксу

(ПКМ), домінуючим компонентом якого у тканинах шкіри є волокна колагену. При цукровому діабеті спостерігається пригнічення продукування нативного колагену фібробластами шкіри, посилена його фрагментація під дією матриксних металопротеїназ (MMPs) та модифікація за рахунок неферментативного глікозильовання з утворенням так званих AGEs (advanced glycation end products) [3, 4]. Фрагментовані та глікозильовані волокна колагену здатні, у свою чергу, взаємодіяти з відповідними рецепторами на поверхні лейкоцитів та епітеліоцитів, обумовлюючи вивільнення прозапальних цитокінів та медіаторів,

що посилюють активність MMPs і замикають *circulus vitiosus* тривалого запального процесу в діабетичній рані [5]. Додатковим фактором, що гальмує швидке загоєння діабетичної виразки, є руйнування факторів росту під впливом агресивного ранового ексудату з підвищеною протеолітичною активністю [6].

Серед різних типів MMPs, важливе значення у реорганізації ПКМ під час ранового процесу мають желатинази (MMP-2 та MMP-9), які забезпечують деградацію не тільки волокон колагену IV, частково денатурованого колагену I, еластину, фібронектину, але й деяких факторів росту та їхніх рецепторів [7]. До того ж, було показано, що желатиназа А (MMP-2) бере участь у процесингу низки цитокінів, – зокрема, в утворенні активного інтерлейкіну-1 β (IL-1 β) з проінтерлейкіну-1 β шляхом обмеженого протеолізу [8]. У свою чергу, IL-1 β індукуює синтез желатиназ фібробластами [9]. Таким чином, хронічний запальний процес у рані сприяє підвищеній активності MMP-2 та MMP-9, що було підтверджено як у дослідах на мишах, так і клінічними дослідженнями ранового ексудату пацієнтів з діабетичними виразками [10, 11]. Тому, на думку деяких авторів, рівень експресії MMP-2 у рані може слугувати надійним індикатором її здатності до загоєння [12].

За даними літератури, застосування селективних інгібіторів желатиназ (наприклад, композиції ND-336) хоч і пришвидшувало гоєння діабетичної виразки [13], але не усувало одну з головних причин хронічного запалення, якою є постійна прозапальна активація імунних клітин через накопичення AGEs у рані. Тому, на нашу думку, ефективна елімінація глікозильованих фрагментів ПКМ у рані може бути патогенетично обґрунтованим методом лікування діабетичних виразок. Проте слід враховувати, що глікозильовання колагену з утворенням патологічних поперечних зшивок між фібрилами суттєво зменшує його сприйнятливості до деградації під впливом MMPs [14]. Таким чином, попри підвищену протеолітичну активність, продукти глікозильовання ПКМ не можуть бути повністю розщеплені у діабетичній виразці та уповільнюють її загоєння сприяючи хронічному запальному процесу. Отже, наша гіпотеза полягає в тому, що застосування екзогенних гідролаз мікробного походження, здатних ефективно очистити діабетичну рану від AGEs, може сприяти її загоєнню.

Ціль: оцінити вплив екзогенних мікробних протеїназ на активність MMP-2 у динаміці загоєння діабетичної рани.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Лабораторні тварини

Дослідження вимагало використання лабораторних тварин, оскільки складний та багатокомпонентний процес загоєння рани неможливо відтворити на ізольованій культурі клітин. Було використано 48

щурів лінії Wistar. Тварини чоловічої статі, віком 6-7 міс., вагою 180-200 г, не мали зовнішніх ознак патології та були отримані з віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Щури утримувалися в індивідуальних клітках, за температури 22 \pm 2 °С, з доступом до води та їжі *ad libitum*. Вибір білих щурів у якості піддослідних тварин був економічно обґрунтованим та пов'язаним зі зручністю моделювання типових патологічних процесів у таких тварин. Усі маніпуляції із тваринами проводилися з дотриманням загальноприйнятих етичних принципів, відповідно до міжнародних рекомендацій (Директива ЄС 2010/63/EU щодо захисту тварин, які використовуються з науковою метою) та національних регламентуючих норм щодо гуманного поводження із тваринами. Протокол експериментальної роботи було затверджено Комісією з біоетики НМУ імені О.О. Богомольця.

Моделювання діабетичної виразки

Для індукування цукрового діабету використовували загальноприйнятну стрептозотоцинову (STZ) модель, коли тваринам одноразово вводили 50 мг/кг STZ (Sigma-Aldrich, USA) внутрішньочеревно. Розвиток діабету оцінювали за рівнем глюкози та глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) у крові. Так, через чотири тижні після ін'єкції STZ, середні рівні глікемії та HbA1c склали 13,54 \pm 2,35 ммоль/л та 8,5 \pm 1,6%, відповідно, і достовірно перевищували ($p < 0,05$) значення показників цих тварин до введення препарату (4,45 \pm 1,38 ммоль/л та 4,1 \pm 1,8%, відповідно).

Для моделювання рани у щурів з гіперглікемією та високим рівнем HbA1c використовували стандартну тваринну модель термічного опіку за Walker та Mason [15], з модифікаціями. Так, під постійною ефірною анестезією, до депільованої шкіри дорзальної поверхні тулуба тварин щільно прикладали мідні пластини, розміром 3,7 \times 4,5 см, попередньо занурені в окріп на 10 хв. Тривалість контакту пластин зі шкірою складала 10 сек. Термічне ураження відповідало II-IIIА ступеню опіку (за глибиною дефекту – дермальний опік), а його площа дорівнювала 0,0052 м², що відповідало 19 \pm 1,6% від загальної поверхні шкіри тварин, розрахованої за формулою Meeh [16]. Після нанесення опіку щури перебували під подовженою анестезією ефіром, також тваринам вводили 50 мл/кг розчину Рінгера внутрішньочеревно. Вибір термічного опіку в якості ранової моделі був обумовлений більшою стандартизацією ураження (порівняно з пошкодженням гострими предметами) та зручністю визначення площі дефекту шкіри в динаміці процесу загоєння.

Композит для загоєння рани

Для забезпечення очищення рани від некротичного детриту, а також з метою ефективної деградації модифікованих (глікозильованих) та фрагментованих компонентів ПКМ були використані поліспецифічні мікробні гідролази з комплексу Pronase (Sigma-

Aldrich, USA). Для обмеження агресивного впливу на неушкоджені тканини, зокрема на волокна нативного колагену, а також з метою аутокаталітичної інактивації, згадані ферменти були адсорбовані на нерозчинних гранулах з пористою структурою. У якості останніх були використані поліакрилові наночастинки Spheron 100 000 LC (Lachema, Czech Republic), розміром до 45 мкм. Фіксацію протеїназ на таких полімерних носіях проводили стандартним методом ковалентної іммобілізації [17]. У якості водорозчинної основи для отриманих наночастинок застосовували поліетиленгліколь, що забезпечував гідрофільні умови для оптимального функціонування мікробних ферментів. Запропонований композит для загоєння ран зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі (№105500 від 25.03.16).

Обробка рани та забір матеріалу

Після відтворення діабетичної рани всіх щурів (n=48) було випадковим чином розподілено на дві групи по 24 тварини в кожній. Першу групу (ЦД+Л) склали щури, яким щоденно після промивання опікової рани фізіологічним розчином рівномірно наносили композит з описаними фермент-вмісними наночастинами. Другу групу (ЦД) склали діабетичні щури, яким щоденно обробляли ранову поверхню тільки фізіологічним розчином.

Тварин з обох груп виводили з експерименту шляхом внутрішньочеревного введення летальної дози тіопенталу натрію та наступної декапітації на 3, 7, 14 та 21 добу після нанесення опіку – по 6 тварин із групи в кожен із зазначених термінів, що відповідали загальноприйнятим уявленням про стадійність перебігу ранового процесу [18]. Ділянки шкіри з опіковою ранною промивали фізіологічним розчином та вилучали гострим шляхом: матеріалом дослідження були прямокутні смужки розміром 1,5×0,5 см, що включали центральну частину рани та її край з дотичною нормальною тканиною шкіри. Отримані зразки зберігали в рідкому азоті до моменту дослідження.

Визначення активності MMP-2

Рівень активності матричної металопротеїнази-2 визначали методом субстратної (желатинової) зимографії [19]. Так, фрагменти тканин опікової рани шкіри діабетичних щурів подрібнювали та розтирали в рідкому азоті. Гомогенати (по 200 мг) змішували з буфером для екстракції, піддавали ультразвуковій дезінтеграції та центрифугували, після чого надосадову рідину збирали та переносили до пластикових пробірок. Концентрацію загального протеїну вимірювали спектрофотометрично. Протеїнові екстракти змішували з буфером для нанесення на електрофорез. Електрофоретичне розділення протеїнових проб проводили за допомогою гель-електрофорезу у сополімері поліакриламід та желатину (5 мг/мл) у трис-гліциновому буфері (рН 8,6), за напруги 70 В. Кількість загального протеїну складала 100 мкг/трек.

Після електрофорезу гель виймали та промивали. Колагенолітичну активність проявляли у developing-буфері (рН 7,4), після чого гель забарвлювали у розчині Кумассі R-250. Отримані зимограми сканували для проведення кількісного денситометричного аналізу з використанням програмного забезпечення TL-120 (TotalLab Ltd., США). Відносну активність MMP-2 виражали в умовних одиницях оптичної густини (arbitrary units, AU).

Статистичний аналіз

Усі показники були представлені у вигляді середнього значення ± стандартне відхилення (SD). Перевірку даних на нормальність проводили за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. За умов нормального закону розподілу показників статистичну відмінність між двома незалежними групами (ЦД та ЦД+Л) у різні терміни дослідження перевіряли за допомогою критерію Стьюдента, а для оцінки динаміки показників всередині кожної групи (на 3, 7, 14 та 21 добу дослідження) використовували дисперсійний аналіз із застосуванням критерію Шеффе. Усі розрахунки проводили у програмному пакеті SPSS software (IBM SPSS Statistics Base, v.22). Статистично значуща відмінність між показниками була встановлена на рівні $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Динаміка активності MMP-2 у групі ЦД

Рівень активності желатинази А у тканинах опікової рани щурів у групі ЦД на 3 добу дослідження складав $4,9 \pm 1,3$ AU, а вже на 7 добу зростав у 3,6 рази ($p < 0,01$), сягаючи $17,82 \pm 1,74$ AU. На 14 добу процесу загоєння активність MMP-2 була максимальною за весь час спостереження ($52,55 \pm 3,06$ AU), перевищуючи в 10 та 3 рази ($p < 0,01$) показники 3 та 7 доби, відповідно. На 21 добу активність досліджуваного ферменту зменшувалася на 8,5 AU ($p < 0,01$) відносно 14 доби, але все одно залишалася вищою ($p < 0,01$) за попередні терміни спостереження. Виявлена динаміка (рис. 1) відповідає попереднім дослідженням на мишах, що показали низький рівень про-MMP-2 у діабетичній рані на ранніх стадіях процесу загоєння [20]. Подальше зростання активності MMP-2 у рані підтверджується дослідженнями й у людей. При цьому була виявлена пряма залежність між високим рівнем глюкози у крові та активністю MMP-2 у тканинах діабетичної виразки та ранового ексудату [21].

Поясненням виявленої динаміки активності MMP-2 у рані діабетичних щурів може бути той факт, що в умовах хронічної гіперглікемії порушуються проліферація та міграція фібробластів та кератиноцитів, тому цих клітин дуже мало в рані й вони не можуть бути джерелом желатиназ, хоча, за даними Wall et al. продукування MMPs фібробластами неушкодженої шкіри при цукровому діабеті значно збільшене [22]. Проте ми вважаємо, що значне зростання активності MMP-2 у діабетичній рані опосередковано накопи-

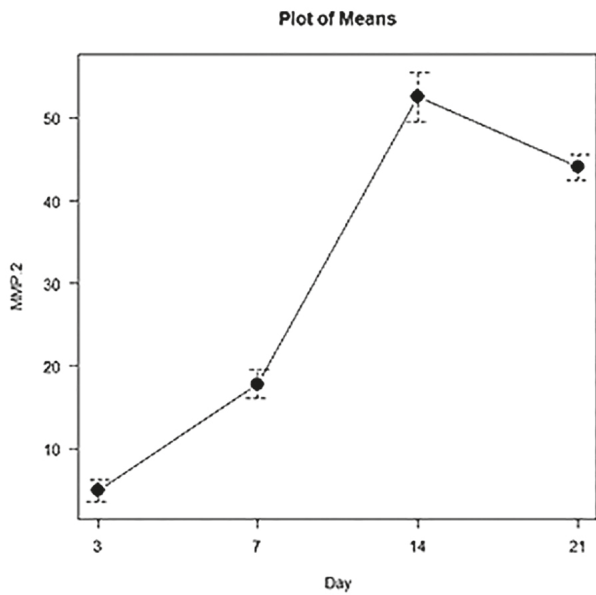


Рис. 1. Динаміка активності MMP-2 у тканинах опікової рани шкіри щурів із модельованим цукровим діабетом (група ЦД) на 3, 7, 14 та 21 добу після нанесення опіку, в умовних одиницях (AU)

ченням та прозапальною активацією макрофагів/моноцитів. Це обумовлює розвиток хронічного запалення зі збільшеним рівнем таких цитокінів, як IL-1 β та фактор некрозу пухлин- α , які, в свою чергу, стимулюють синтез MMP-2 [9, 23].

Динаміка активності MMP-2 у групі ЦД+Л

На 3 добу дослідження у групі ЦД+Л активність MMP-2 у діабетичній рані становила 15,93 \pm 2,68 AU і поступово зменшувалася ($p < 0,05$) до 10,63 \pm 1,75 та 5,67 \pm 2,67 AU на 7 та 14 добу, відповідно. Проте

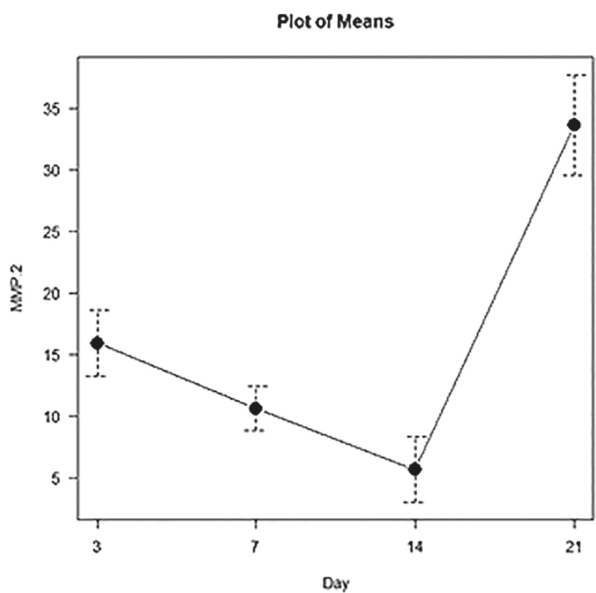


Рис. 2. Динаміка активності MMP-2 у тканинах опікової рани шкіри щурів із модельованим цукровим діабетом під впливом фермент-вмісних наночастинок (група ЦД+Л) на 3, 7, 14 та 21 добу спостереження, в умовних одиницях (AU)

на 21 добу спостерігався другий пік активності досліджуваного ферменту (33,64 \pm 4,1 AU), що вдвічі перевищував ($p < 0,01$) показник 3 доби і в 6 разів ($p < 0,01$) – значення 14 доби (рис. 2). Ми припускаємо, що низхідний тренд динаміки желатинази А від 3 до 14 доби спостереження є свідченням протизапального ефекту фермент-вмісних наночастинок на процес гоєння опікової рани. А збільшення активності ферменту на 21 добу може результатом його продукування кератиноцитами під час ре-епіталізації та ендотеліоцитами під час неангіогенезу, що посилюються внаслідок вщухання запального процесу в рані через зменшення вмісту AGEs.

Порівняння активності MMP-2 між групами ЦД та ЦД+Л

На рисунку 3 та рисунку 4 представлені репрезентативні зимограми, що характеризують вплив фермент-вмісних наночастинок на активність MMP-2 в опіковій рані діабетичних щурів на 3, 7 та 14, 21 добу, відповідно.

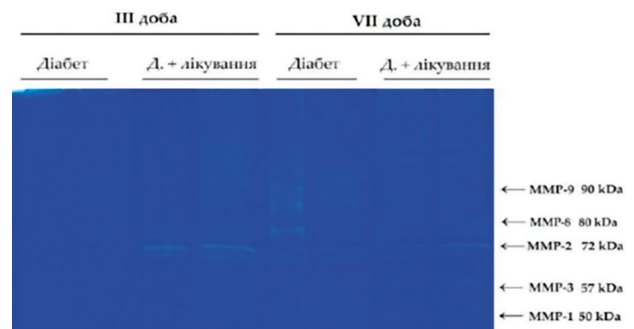


Рис. 3. Репрезентативна зимограма активності матричних металопротеїназ у тканинах опікової рани щурів з цукровим діабетом (група ЦД) та під впливом фермент-вмісних наночастинок (група ЦД+Л) на 3 та 7 добу дослідження

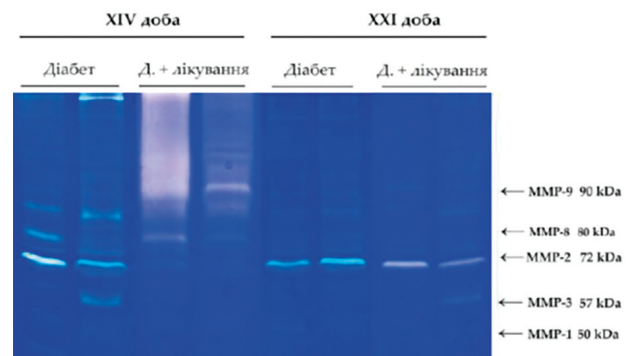


Рис. 4. Репрезентативна зимограма активності матричних металопротеїназ у тканинах опікової рани щурів з цукровим діабетом (група ЦД) та під впливом фермент-вмісних наночастинок (група ЦД+Л) на 14 та 21 добу дослідження

На 3 добу дослідження активність желатинази А в тканинах опікової рани щурів у групі ЦД+Л утричі перевищувала ($p < 0,01$) показник у групі ЦД (рис. 5). Ми вважаємо, що такий високий рівень активності MMP-2 у групі ЦД+Л можна пояснити нашаровуванням у часі пришвидшеної

міграції макрофагів та початку ре-епітелізації, тоді як у групі ЦД функція кератиноцитів залишається пригніченою, а в рані ще перебуває «перша лінія» клітин-емігрантів – нейтрофіли. Але вже з 7 доби активність MMP-2 у групі ЦД перевищує показник групи ЦД+Т у півтора рази, а на 14 добу – в 10 разів ($p < 0,01$). Ми припускаємо, що таке суттєве зменшення колагенолітичної активності в тканинах рани під впливом мікробних протеїназ, фіксованих на наночастинках, є наслідком ефектної елімінації деградованих та глікозильованих фрагментів ПКМ. Так, зменшення активації рецепторів до AGEs (RAGEs) на поверхні макрофагів у діабетичній рані сприяє їхньому репрограмуванню в M2-фенотип, що сприяє завершенню запалення. Зменшення AGE-RAGE сигналіну у фібробластах посилює їхню проліферацію та синтез колагену, що забезпечує формування грануляційної тканини. У свою чергу, безпосереднім наслідком зменшення активності MMP-2 у рані є пригнічення апоптозу ендотеліоцитів та посилення їхньої здатності до міграції, що є вкрай важливим під час неоваскуляризації.

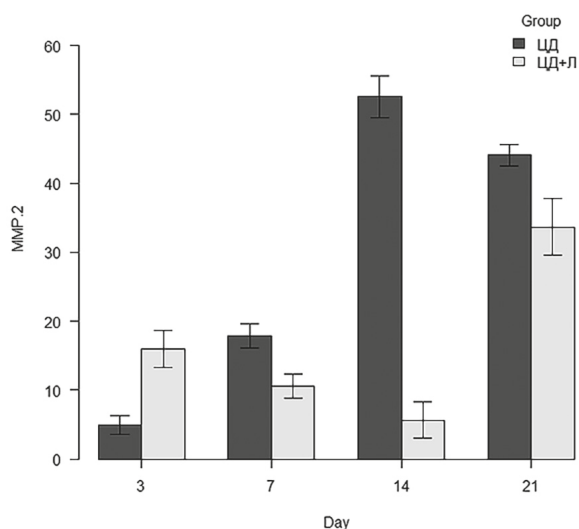


Рис. 5. Порівняльна характеристика активності MMP-2 у тканинах опікової рани шкіри щурів із модельованим цукровим діабетом (група ЦД) тау тканинах діабетичної рани під впливом фермент-вмісних наночастинок (група ЦД+Л) у різні періоди спостереження

Попри спільну тенденцію до підвищення активності MMP-2 в обох групах на 21 добу дослідження, рівень MMP-2 у групі ЦД залишався вищим ($p < 0,01$), ніж у групі ЦД+Т, оскільки джерелом цього ферменту в першому випадку були прозапальні макрофаги, тоді як у групі ЦД+Л – фібробласти, задіяні у активному формуванні грануляційної тканини [25].

ВИСНОВКИ

Желатинази задіяні в усіх стадіях загоєння рани. При хронічній гіперглікемії у рані порушується утворення колагенового каркасу, що є провізорним ПКМ, необхідним для активної міграції ендотеліоцитів та кератиноцитів, натомість, накопичуються AGEs, які є стійкими до MMP-залежної деградації, підсилюють прозапальну активацію лейкоцитів та пригнічують проліферацію фібробластів. Застосування фермент-вмісних наночастинок забезпечує ефективну деградацію глікозильованих компонентів ПКМ, сприяючи тим самим зменшенню запального процесу, зниженню активності MMP-2 та загоєнню опікової рани у щурів із стрептозотоцин-індукованим діабетом.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів.

Джерело фінансування. Дослідження було профінансовано Міністерством охорони здоров'я України, грант № 0119U101219.

REFERENCES

- Zhang P, Lu J, Jing Y, Tang S, Zhu D, Bi Y. Global epidemiology of diabetic foot ulceration: a systematic review and meta-analysis. *Annals of medicine*. 2017;49(2):106-116. DOI: 10.1080/07853890.2016.1231932
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07853890.2016.1231932>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27585063/>
- Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. Wound healing in the 21st century. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2010;63(5):866-881. DOI: 10.1016/j.jaad.2009.10.048
View at: Publisher Site: [https://www.jaad.org/article/S0190-9622\(09\)01499-6/fulltext](https://www.jaad.org/article/S0190-9622(09)01499-6/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20576319/>
- Black E, Vibe-Petersen J, Jorgensen LN, Madsen SM, Agren MS, Holstein PE, Perrild H, Gottrup F. Decrease of collagen deposition in wound repair in type 1 diabetes independent of glycemic control. *Archives of surgery*. 2003;138(1):34-40. DOI: 10.1001/archsurg.138.1.34
View at: Publisher Site: <https://jamanetwork.com/journals/jamasurgery/fullarticle/394022>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12511146/>
- Liao H, Zakhaleva J, Chen W. Cells and tissue interactions with glycated collagen and their relevance to delayed diabetic wound healing. *Biomaterials*. 2009;30(9):1689-1696. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.11.038
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961208009113?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19157537/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2668700/>
- Peppas M, Stavroulakis P, Raptis SA. Advanced glycoxidation products and impaired diabetic wound heal-

- ing. *Wound Repair and Regeneration*. 2009;17(4):461-472. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2009.00518.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1524-475X.2009.00518.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19614910/>
6. McCarty SM, Percival SL. Proteases and delayed wound healing. *Advances in wound care*. 2013;2(8):438-447. DOI: 10.1089/wound.2012.0370
View at: Publisher Site: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/wound.2012.0370>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24688830/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842891/>
7. Vargová V, Pytliak M, Mechírová V. Matrix Metalloproteinases. In: Gupta S. (eds) *Matrix Metalloproteinase Inhibitors*. *Experientia Supplementum*, 2012;103:1-33. Springer, Basel. DOI: 10.1007/978-3-0348-0364-9_1
View at: Scopus: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-0348-0364-9_1
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22642188/>
8. Yanhan R, Guosheng G, Min Y, Driver VR. Role of matrix metalloproteinases in chronic wound healing: diagnostic and therapeutic implications. *Chinese Medical Journal*. 2014;127(8):1572-1581. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20131179
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24762608/>
9. Dai J, Shen J, Chai Y, Chen H. IL-1 β Impaired Diabetic Wound Healing by Regulating MMP-2 and MMP-9 through the p38 Pathway. *Mediators of Inflammation*. 2021: article ID 6645766. DOI: 10.1155/2021/6645766
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2021/6645766/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34054346/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8149221/>
10. Neely AN, Clendening CE, Gardner J, Greenhalgh DG. Gelatinase Activities in Wounds of Healing-Impaired Mice Versus Wounds of Non-Healing-Impaired Mice. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*. 2000;21(5):395-402. DOI:10.1097/00004630-200021050-00001
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/jbcr>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11020045/>
11. Lazaro JL, Izzo V, Meaume S, Davies AH, Lobmann R, Uccioli L. Elevated levels of matrix metalloproteinases and chronic wound healing: an updated review of clinical evidence. *Journal of Wound Care*. 2016;25(5):277-287. DOI: 10.12968/jowc.2016.25.5.277
View at: Publisher Site: <https://www.magonlineibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.2016.25.5.277>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27169343/>
12. Karim RB, Brito BL, Dutrieux RP, Lassance FP, Hage JJ. MMP-2 assessment as an indicator of wound healing: a feasibility study. *Advances in skin & wound care*. 2006;19(6), 324-327. DOI: 10.1097/00129334-200607000-00011.
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/aswc-journal/Fulltext/2006/07000/MMP_2_Assessment_as_an_Indicator_of_Wound_Healing_.11.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16885646/>
13. Gao M, Nguyen TT, Suckow MA, Wolter WR, Gooyit M, Mobashery S, Chang M. Acceleration of diabetic wound healing using a novel protease-anti-protease combination therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(49):15226-15231. DOI: 10.1073/pnas.1517847112
View at: Publisher Site: <https://www.pnas.org/content/112/49/15226>
14. Panwar P, Butler GS, Jamroz A, Azizi P, Overall CM, Brömme D. Aging-associated modifications of collagen affect its degradation by matrix metalloproteinases. *Matrix Biology*. 2018;65:30-44. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.06.004
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0945053X17301300?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28634008/>
15. Walker HL, Mason AD. A standard animal burn. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*. 1968;8(6):1049-1051. DOI: 10.1097/00005373-196811000-00006
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/jtrauma/Citation/1968/11000/A_STANDARD_ANIMAL_BURN.6.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5722120/>
16. Gilpin DA. Calculation of a new Meeh constant and experimental determination of burn size. *Burns*. 1996;22(8):607-611. DOI: 10.1016/S0305-4179(96)00064-2
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417996000642?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8982538/>
17. Zucca P, Sanjust E. Inorganic Materials as Supports for Covalent Enzyme Immobilization: Methods and Mechanisms. *Molecules*. 2014;19(9):14139-14194. DOI: 10.3390/molecules190914139
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/1420-3049/19/9/14139>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25207718/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6272024/>
18. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)*. 2008;26(2):31-37. DOI: 10.1016/j.mpsur.2007.11.005
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S026393190700316X>
Publisher Site: <https://www.surgeryjournal.co.uk/article/S0263-9319%2807%2900316-X/abstract%3Fcc%3Dy%3D>
19. Snoek-van Beurden PA, Von den Hoff JW. Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Biotechniques*. 2005;38(1):73-83. DOI: 10.2144/05381RV01

- View at: Publisher Site: <https://www.future-science.com/doi/10.2144/05381RV01>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15679089/>
20. Lioupis C. Effects of diabetes mellitus on wound healing: an update. *Journal of Wound Care*. 2005;14(2):84-86. DOI: 10.12968/jowc.2005.14.2.26738
View at: Publisher Site: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.2005.14.2.26738>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15739657/>
21. Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabetic Medicine*. 2006;23(6):594-608. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2006.01773.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-5491.2006.01773.x>
22. Wall SJ, Sampson MJ, Levell N, Murphy G. Elevated matrix metalloproteinase-2 and -3 production from human diabetic dermal fibroblasts. *British Journal of Dermatology*. 2003;149(1):13-16. DOI: 10.1046/j.1365-2133.2003.05262.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2133.2003.05262.x>
23. Arenas IA, Xu Y, Lopez-Jaramillo P, Davidge ST. Angiotensin II-induced MMP-2 release from endothelial cells is mediated by TNF- α . *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2004;286(4):779-784. DOI: 10.1152/ajpcell.00398.2003
View at: Publisher Site: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpcell.00398.2003>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14644777/>
24. Shapiro S, Khodalev O, Bitterman H, Auslender R, Lahat N. Different activation forms of MMP-2 oppositely affect the fate of endothelial cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2009;298(4):942-951. DOI: 10.1152/ajpcell.00305.2009
View at: Publisher Site: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpcell.00305.2009>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20071690/>
25. Tardáguila-García A, García-Morales E, García-Alamino JM, et al. Metalloproteinases in chronic and acute wounds: A systematic review and meta-analysis. *Wound Repair and Regeneration*. 2019;27(4):415-420. DOI: 10.1111/wrr.12717
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/wrr.12717>

Article history
Received: 01.06.2021
Revision requested: 12.06.2021
Revision received: 19.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТ-СОДЕРЖАЩИХ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА АКТИВНОСТЬ MMP-2 ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ ОЖГОВОЙ РАНЫ У КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ ДИАБЕТОМ

Мироненко О.И., Панова Т.И., Натрус Л.В., Верёвка С.В.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

om.ua.md@gmail.com

Актуальность. Синдром диабетической стопы является распространенным осложнением, которое характеризуется развитием хронических язв. Среди механизмов нарушения заживления диабетической раны ведущую роль играет нарушение гомеостаза внеклеточного матрикса: хроническая гипергликемия, с одной стороны, способствует образованию так называемых advanced glycation end products (AGEs), опосредующих провоспалительную активацию иммунных клеток, а с другой стороны, подавляет пролиферацию и синтетическую функцию фибробластов, нарушает миграцию кератиноцитов и эндотелиоцитов. Поэтому элиминация AGEs является патогенетически обоснованным методом лечения хронических язв при сахарном диабете. С этой целью был разработан композит, состоящий из полиспецифичных микробных протеаз, фиксированных на полимерных пористых наночастицах. Прогностическим индикатором заживления хронической раны была выбрана активность матриксной металлопротеиназы-2 (MMP-2).

Цель: изучить активность MMP-2 в тканях ожоговой раны крыс с сахарным диабетом под влиянием фермент-содержащих наночастиц.

Материалы и методы. В опыте было использовано $n=48$ крыс линии Wistar. Сахарный диабет был индуцирован введением 50 мг/кг стрептозотоцина. Для моделирования раны у крыс использовали стандартную животную модель термического ожога по Walker и Mason, с модификациями. Термическое поражение соответствовало II-IIIА степени ожога и составляло $19 \pm 1,6\%$ от общей площади кожи животных. Крысы были разделены на две группы по 24 животных в каждой: группа СД не получала лечения, а крысам из группы СД+Л ежедневно на ожоговую рану наносили композит с фермент-содержащими наночастицами. Животных выводили из эксперимента на 3, 7, 14 и 21 сутки наблюдения. Активность MMP-2 в тканях ожоговой раны диабетических крыс исследовали методом желатиновой зимографии, выражали в условных единицах (AU). Статистическую обработку данных выполняли в программном пакете SPSS Statistics Base v.22 с помощью критерия Стьюдента для парных сравнений и критерия Шеффе - для множественных сравнений.

Результаты. Уровень активности MMP-2 в тканях ожоговой раны крыс в группе СД на 3 сутки исследования составлял $4,9 \pm 1,3$ AU, увеличивался на 7 сутки ($p < 0,01$) и достигал максимального уровня ($52,55 \pm 3,06$ AU) на 14 сутки ($p < 0,01$). На 21 сутки активность исследуемого фермента уменьшалась на $8,5$ AU ($p < 0,01$) относительно 14 суток.

На 3 сутки исследования в группе СД+Л активность MMP-2 составила $15,93 \pm 2,68$ AU и постепенно уменьшалась ($p < 0,01$) до $5,67 \pm 2,67$ AU на 14 сутки. Однако на 21 сутки наблюдался второй пик ($p < 0,01$) активности исследуемого фермента ($33,64 \pm 4,1$ AU).

При сравнении двух групп (СД и СД+Л) на 3 сутки исследования активность MMP-2 в тканях ожоговой раны крыс в группе СД+Л втрое превышала ($p < 0,01$) показатель в группе СД. Но уже с 7 суток активность MMP-2 в группе СД была выше показателя группы СД+Л в полтора раза, а на 14 сутки - в 10 раз ($p < 0,01$). На 21 сутки исследования уровень MMP-2 в группе СД оставался выше ($p < 0,01$), чем в группе СД+Л.

Выводы. Применение фермент-содержащих наночастинок обеспечивает эффективную деградацию гликозилированных компонентов внеклеточного матрикса, способствуя тем самым уменьшению воспалительного процесса, снижению активности MMP-2, и способствует заживлению ожоговой раны у крыс со стрептозоточин-индуцированным диабетом.

Ключевые слова: сахарный диабет, хроническая рана, MMP-2, AGEs, наночастицы.

EFFECT OF THE ENZYME-CONTAINING POLYMERIC NANOPARTICLES ON MMP-2 ACTIVITY DURING BURN WOUND HEALING IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

Myronenko O.I., Panova T.I., Natrus L.V., Verevka S.V.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

om.ua.md@gmail.com

Relevance. Diabetic foot syndrome is a common complication that is characterized by the development of chronic ulcers. Among the mechanisms of impaired wound healing, the leading role is played by disturbance of extracellular matrix homeostasis: chronic hyperglycemia, on the one hand, promotes the formation of so-called advanced glycation end products (AGEs), which mediate pro-inflammatory activation of immune cells, and on the other hand, inhibits fibroblasts proliferation and collagen production, disrupts the migration of keratinocytes and endothelial cells. Therefore, the elimination of AGEs is a pathogenetic approach in diabetic wound treatment. For this purpose, a composite consisting of polyspecific microbial proteinases fixed on polymeric porous nanoparticles was developed. The activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) was chosen as a prognostic indicator of chronic wound healing.

Objective: to study the activity of MMP-2 in the tissues of the burn wound of rats with simulated diabetes mellitus under the influence of enzyme-containing nanoparticles.

Materials and methods. N = 48 Wistar rats were used in the experiment. Diabetes mellitus was induced by administration of 50 mg/kg of streptozotocin. To model the wound in rats, a standard animal model of thermal burns by Walker and Mason was used. Thermal damage corresponded to the II-III degree of burns, and occupied $19 \pm 1,6\%$ of the total area of animal skin. Rats were divided into two groups of 24 animals each: the DM group did not receive any treatment, and rats from the DM+T group were daily applied to the burn wound with the mentioned composite (enzyme-containing nanoparticles). Animals were removed from the experiment on days 3, 7, 14 and 21 of observation. The activity of MMP-2 in the tissues of the burn wound of diabetic rats was studied by gelatin zymography, expressed in arbitrary units (AU). Statistical data processing was performed in the software package SPSS Statistics Base, v.22 with Student and Scheffe tests.

Results. The level of activity of MMP-2 in the tissues of the burn wound of rats in the DM group on the 3rd day of the study was 4.9 ± 1.3 AU, increased by 7 days ($p < 0.01$) and reached a maximum level of 52.55 ± 3.06 AU at day 14 ($p < 0.01$). On day 21, the activity of the test enzyme decreased by 8.5 AU ($p < 0.01$), compared to day 14.

On day 3 of the study in the DM+T group, the activity of MMP-2 in the diabetic wound was 15.93 ± 2.68 AU and gradually decreased ($p < 0.01$) to 5.67 ± 2.67 AU on day 14. However, on day 21, the second peak ($p < 0.01$) of the activity of the studied enzyme was observed - 33.64 ± 4.1 AU.

When comparing the two groups (DM and DM+T) on day 3 of the study, the activity of MMP-2 in the tissues of the burn wound of rats in the DM+T group was three times higher ($p < 0.01$) than in the DM group. But from the 7th day the activity of MMP-2 in the DM group was higher than the DM+T group. On day 21 of the study, the level of MMP-2 in the DM group remained higher ($p < 0.01$) than in the DM+T group.

Conclusions. The use of enzyme-containing nanoparticles provides effective degradation of glycosylated components of the extracellular matrix (AGEs), thereby reducing the inflammatory process and activity of MMP-2, and promoting wound healing in rats with streptozotocin-induced diabetes.

Key words: diabetes mellitus, chronic wound, MMP-2, AGEs, nanoparticles.

СТАН КЛІТИН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІМУНООПОСЕРЕДКОВАНОМУ ЗАПАЛЕННІ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Павлович С.І. <https://orcid.org/0000-0001-7946-6679>

Грушка Н.Г. <https://orcid.org/0000-0001-9182-0108>

Кондрацька О.А. <https://orcid.org/0000-0002-3496-0603>

Красуцька Н.О. <https://orcid.org/0000-0002-0450-2425>

Янчій Р.І. <https://orcid.org/0000-0001-7129-7698>

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

krasutka@gmail.com

Актуальність. Імуноопосередковане запалення різного генезу відіграє суттєву патогенетичну роль при аутоімунних, алергічних, запальних та інфекційних хворобах.

Ціль: порівняльне дослідження функціонального статусу і шляхів загибелі клітин природного та адаптивного імунітету мишей за умов експериментальної гіперімунокомплексемії та ендотоксемії для виявлення особливостей та спільних клітинних механізмів цих патологій.

Матеріали та методи. Гіперімунокомплексемію моделювали шестикратною імунізацією самок мишей зростаючими дозами антигену – бичачого сироваткового альбуміну (БСА) раз на тиждень; модель ендотоксемії відтворювали шляхом введення ліпополісахариду (ЛПС).

Результати. Застосування як БСА, так і ЛПС призводило до системного запального процесу зі значною нейтрофілією із зсувом лейкограми вліво. Відмічалось значне посилення функціонально-метаболическої активності клітин неспецифічної резистентності. Спостерігався генотоксичний стрес клітин тимуса та лімфовузлів із суттєвим ушкодженням ДНК, зменшенням життєздатності та значним посиленням некротичної загибелі. Порушення цілості плазматичної мембрани внаслідок первинної альтерації і вихід клітинного вмісту назовні має сильний прозапальний та імуногенний ефект, що може призвести до подальшого посилення захворювання та збільшення його тривалості з тенденцією до хронізації патологічного процесу.

Висновок. Таким чином, обидві моделі характеризуються розвитком імунозапальних процесів, які призводять до значного ушкодження ДНК та клітинної загибелі, що може спричинити новий виток посилення некротичних, запальних та аутоімунних реакцій в організмі.

Ключові слова: гіперімунокомплексемія, ендотоксемія, клітини імунної системи, ушкодження ДНК, клітинна загибель.

Актуальність. Імуноопосередковане запалення відіграє суттєву патогенетичну роль при значній кількості захворювань із наявністю імунокомплексного компонента при аутоімунних, алергічних, запальних та інфекційних хворобах (системний червоний вовчак, гломерулонефрит, ревматоїдний артрит, системні васкуліти тощо) [1, 2, 3].

Останнім часом активно досліджується участь різних шляхів клітинної загибелі в етіопатогенезі запальних захворювань. Некротичний тип загибелі, найважливішою особливістю якого є втрата цілісності плазматичної мембрани і вихід клітинного вмісту в тканини, запускає і поглиблює запальні процеси, а також може призводити до формування імунних реакцій на модифіковані або раніше приховані власні внутрішньоклітинні антигени [1, 4, 5]. Апоптотична загибель – більш фізіологічний шлях елімінації клітин, ніж некроз. Як надмірне посилення, так і послаблення та незавершеність апоптозу клітин, у тому числі імунокомпетентних, ведуть до порушення гомеостазу (імунодефіцитні стани, аутоімунні патології) [5, 6]. У ряді досліджень встановлено, що за умов імуноопосередкованого ушкодження посилюється загибель активованих клітин природного і адаптивного

імунітету як в імунокомпетентних (тимус, лімфовузли, селезінка), так і в ушкоджених органах [7, 8, 9].

Певні розлади репродуктивної функції жінок, невдачі застосування допоміжних репродуктивних технологій, включаючи ушкодження ооцитів, погіршення якості ембріонів, утруднення екстракорпорального запліднення та ускладнення вагітності пов'язані з імуноопосередкованим запаленням, викликаним наявністю в організмі ендотоксину грам-негативних мікроорганізмів – ліпополісахариду (ЛПС) [10, 11].

Виходячи з вищезазначеного, представляло суттєвий теоретичний і практичний інтерес дослідити функціональний статус і шляхи загибелі клітин природного та адаптивного імунітету за умов гіперімунокомплексемії та ендотоксемії з метою виявлення особливостей та спільних клітинних механізмів цих патологій.

Ціль: порівняльне дослідження функціонального статусу і шляхів загибелі клітин природного та адаптивного імунітету мишей за умов експериментальної гіперімунокомплексемії та ендотоксемії для виявлення особливостей та спільних клітинних механізмів цих патологій.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Відтворення моделі системного імунокомплексного ушкодження проводилось на статевозрілих самицях мишей лінії СВА масою 18-22 г. У роботі дотримувались положень Конвенції з біоетики Ради Європи (Страсбург, 1997).

Патологічний процес моделювали за допомогою внутрішньовенної імунізації мишей зростаючими дозами антигену – бичачого сироваткового альбуміну (БСА, Sigma, St. Louis, MO, USA) раз на тиждень протягом 6 тижнів за такою схемою: I введення – 150 мг БСА/кг; II – 175 мг/кг; III – 200 мг/кг; IV – 225 мг/кг; V – 250 мг/кг; VI – 275 мг/кг маси миші. На 7 добу після останньої імунізації тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для подальших досліджень.

Системну ендотоксемию моделювали за допомогою внутрішньочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС, *E. coli* 0111:B4, Sigma, USA) в дозі 3 мг/кг маси миші. Через 24 години тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для подальших досліджень. Контрольним мишам вводили фізіологічний розчин у відповідному об'ємі.

Гістологічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою при забарвленні препаратів гематоксилін-еозином, імунофлуоресцентне виявлення фіксації імуноглобулінів проводили після фіксації 1% спирт-пікриновою сумішшю та обробки міченими ФІТС антитілами до мишачих імуноглобулінів (Sigma, USA). Оцінювали інтенсивність флуоресценції клітин та відносну кількість клітин, що світяться.

Дослідження рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦК) в сироватці крові із визначенням малих та великих ЦК проводили загальноприйнятим методом преципітації в розчині поліетиленгліколю-6000 (в мікомодифікації) [12]. Оптичну густину проб визначали за допомогою EIA Multi-well Reader II (Sigma Diagnostics, USA) при 405 нм з референс-фільтром 630 нм. Результати виражали в умовних одиницях – У.О. (оптична густина проб \times 1000).

Клітини тимуса і пахових лімфовузлів виділяли за загальноприйнятою методикою механічної дисоціації шляхом м'якого диспергування з наступним відмиванням клітин і гіпотонічним лізисом еритроцитів. Клітини диспергували в 1 мл холодного ЗФР, фільтрували через капронові фільтри з додаванням 2-3 мл ЗФР, центрифугували 5 хв, 200 г. Осади ресуспендували в 200 мкл ЗФР або культурального середовища. Біля 90 % клітин суспензій при забарвленні за Папенгеймом становили лімфоцити. Відсоток живих та некротичних клітин визначали при забарвленні трипановим синім.

Оцінку шляхів клітинної загибелі імунокомпетентних клітин (ІКК) проводили методом прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 і йодид пропідіума (Sigma, USA), як описано нами раніше [13].

Ступінь ушкодження ДНК клітин тимуса та лімфовузлів визначали методом лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин (метод ДНК-комет) за [14] з деякими нашими модифікаціями [8].

Киснезалежний метаболізм нейтрофілів (Нф) вивчали у тесті з нітросинім тетразолієм (НСТ), заснованому на здатності НСТ відновлюватися до нерозчинного формазау під впливом активних форм кисню (АФК), продукованих активованими клітинами [15]. З метою оцінки функціонального стану НФ крові застосовували також напівкількісний лізосомально-катіонний тест із розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнту – СЦК [15].

Статистична обробка. Перевірку отриманих даних на нормальність розподілу проводили за тестом Колмогорова-Смирнова (при кількості даних до 7 в групі) або Д'Агостіно і Пірсона. За нормального розподілу порівняння груп даних здійснювали з використанням однофакторного дисперсійного аналізу one-way ANOVA та подальшого аналізу з допомогою Newman-Keuls post hoc test. При статистичному аналізі застосовували програми STATISTICA-6 (StatSoft Inc) та GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розроблена нами схема довготривалої імунізації мишей зростаючими дозами ксеногенного білку призводила до зміни гуморальної ланки імунної системи: збільшення вмісту малих ЦК в сироватці крові з 54.7 ± 3.3 У.О. в контролі до 66.1 ± 3.6 У.О. за умов імунізації, $p < 0.05$. Імунофлуоресцентне дослідження встановило значне посилення їх фіксації у внутрішніх органах та органах імунної системи. За гістологічними дослідженнями загальною патологічною рисою органів було ушкодження судин різного калібру. Відмічалось помірне порушення мікроциркуляції з розширенням навколосинусоїдальних просторів, виходом лейкоцитів через розрихлену судинну стінку і формуванням інфільтратів. Ці зміни є патоморфологічними ознаками васкулітів [16, 17]. В імунних органах визначалась значна кількість клітин неспецифічної резистентності моноцитарно-макрофагального ряду, що можуть продукувати велику кількість прозапальних чинників, які проявляють як системні, так і локальні ефекти [6, 18].

Встановлено також значне посилення функціонально-метаболічної активності клітин неспецифічної резистентності. За даними НСТ-тесту нейтрофілів периферичної крові мишей, виявлено збільшення відсотку формазан-позитивних клітин з 24.9 ± 2.9 % в контролі до 69.2 ± 4.0 % при гіперімунокомплексемії ($p < 0.001$) та цитохімічного показника (ЦХП) (який відображає активність процесів в окремій клітині) з 0.34 ± 0.09 в контролі до 1.05 ± 0.19 ($p < 0.01$). Посилена активність клітин-ефекторів запалення із збіль-

шенням продукції біологічно активних речовин, в тому числі АФК, є одним з важливих патогенетичних механізмів ушкодження різних тканин за умов імунокомплексної патології [6, 19]. Свідченням індукованого імунізацією запалення є зсув лейкограми крові вліво, із зростанням як загального відсотка нейтрофілів (з $12.8 \pm 3.4\%$ в контролі до $33.0 \pm 6.3\%$, $p < 0.01$), так і паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів з $4.8 \pm 1.5\%$ в контролі до $9.3 \pm 1.2\%$ ($p < 0.01$) у імунізованих тварин.

Введення БСА приводило до посилення клітинної загибелі: зменшувалась кількість живих клітин, виділених з лімфовузлів та тимусу, було встановлено посилення апоптозу ІКК лімфовузлів у 1.6 рази порівняно з контролем. За умов гіперімунокомплексемії значно посилювалась некротична загибель в клітинах як первинного, так і вторинного органів імунітету (рис. 1). Посилення некротичної загибелі було більш виражене в периферичних лімфоцитах (у 2.1 рази). Для цих клітин було характерним посилення не тільки первинного, а й вторинного, постапоптотичного некрозу до 5.9% (в контролі 3.6% клітин, $p < 0.05$). Як первинний, так і постапоптотичний некроз відіграє значну патогенетичну роль у розвитку аутоімунних хвороб [1, 5, 6].

Встановлено, що через 6 тижнів після початку імунізації БСА в клітинах лімфовузлів та тимусу збільшувався Ідк (загальноприйнятий інтегральний показник, який враховує зміни кількості всіх типів комет із різним ступенем ушкодження ДНК) в 4 рази ($P < 0.001$ відносно контролю), що свідчить про розвиток генотоксичного стресу у клітинах центрального і периферичного органів імунної системи. За таких

умов збільшувався відсоток комет, які належать до 3-4 класу, що характеризує сильне пошкодження ДНК (рис. 2). Таким чином, довготривала імунізація мишей чужорідним білком БСА, яка спричиняє імунокомплексну патологію, призводить до генотоксичного стресу ІКК як центрального (тимуса), так і периферичних органів імунної системи (лімфовузлів). При цьому відбувається зниження життєздатності клітин за рахунок підвищення їх апоптотичної й, в більшій мірі, некротичної загибелі.

Можна стверджувати, що за умов імунокомплексної патології одним із провідних механізмів ушкодження ДНК і некротичної загибелі є активація клітин вродженого імунітету із посиленою продукцією прозапальних чинників (цитокінів, АФК та азоту тощо), що було показано як у наших попередніх дослідженнях, так і на інших моделях імуноопосередкованих хвороб [7, 16, 19, 20]. Ці сполуки за умов недостатнього антиоксидантного захисту можуть спричинити генотоксичний стрес, що було встановлено в даному дослідженні.

Введення ендотоксину ЛПС спричинило через 24 год посилення функціонально-метаболічної активності імуноцитів. За даними НСТ-тесту Нф периферичної крові мишей, збільшувався відсоток формазан-позитивних клітин з $23.8 \pm 6.0\%$ в контролі до $63.0 \pm 7.3\%$ при введенні ЛПС ($p < 0.001$), а також зростав ЦХП з 0.34 ± 0.06 в контролі до $0.96 \pm 0.04\%$ ($p < 0.001$). Паралельно збільшувався СЦК реакції на вміст катіонних білків з $0.04 \pm 0.01\%$ в контролі до $0.31 \pm 0.04\%$ при введенні ЛПС ($p < 0.001$). Як відомо, неферментативні катіонні білки лізосом, окрім антимікробної дії, мають властивості медіатора запалення та фактора вторинної

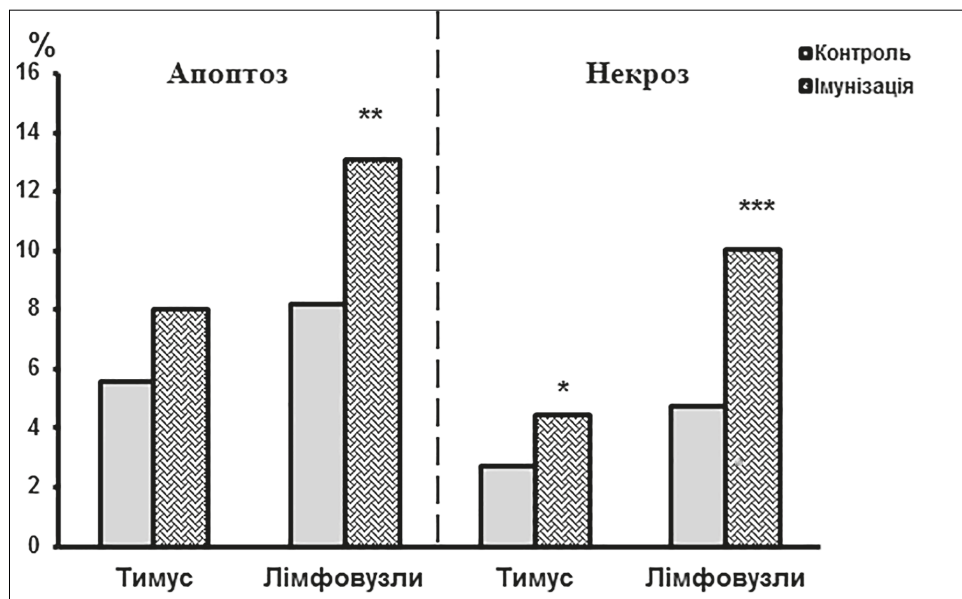


Рис. 1. Зміни апоптозу та некрозу клітин, виділених з тимуса та лімфовузлів, за умов імунізації мишей БСА. * – $P < 0.05$, ** – $P < 0.01$, *** – $P < 0.001$ по відношенню до контролю.

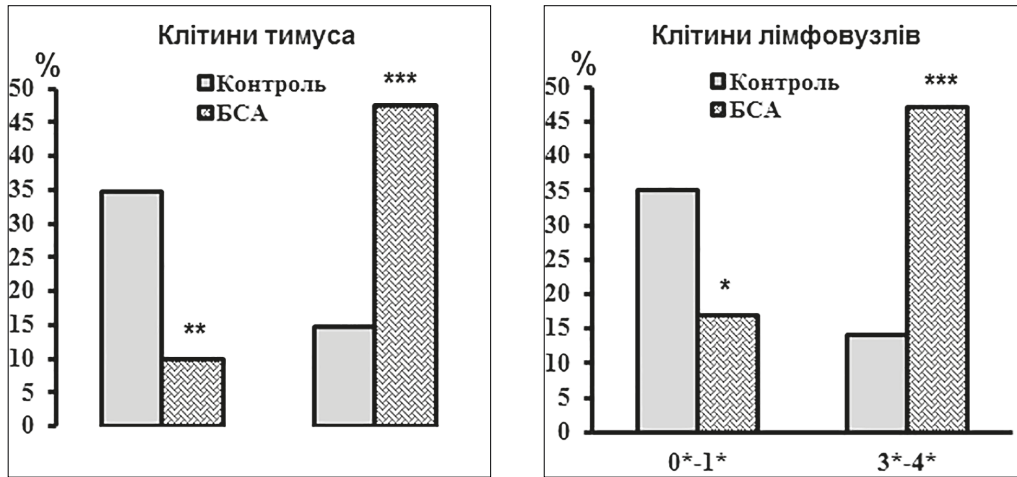


Рис. 2. Зміни кількості клітин, виділених з тимуса та лімфовузлів з інтактною та сильно ушкодженою ДНК за умов імунізації мишей БСА. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ – відносно контролю.

альтерації, призводячи до збільшення проникності судин, хемотаксису та активації лейкоцитів [21]. За даними лейкограми крові, збільшувався відсоток паличкоядерних Нф в крові з $4.6 \pm 1.2\%$ в контролі до $18.2 \pm 1.9\%$ при дії ЛПС ($n=10$ в обох групах, $p < 0.001$), а також відсоток сегментоядерних Нф з $12.7 \pm 1.7\%$ (контроль) до $35.4 \pm 3.9\%$ (ЛПС, $p < 0.001$), тобто виявлялася значна нейтрофілія із зсувом лейкограми вліво, що є ознакою системного запального процесу. Активація клітин імунної системи супроводжувалась індукцією активаційного апоптозу. Таким чином, введення ендотоксину призводило до вираженої запальної реакції імуніцитів. Методом ДНК-комети встановлено, що введення ЛПС збільшувало Ідк клітин тимуса та лімфовузлів ($p < 0.001$), відзначалося значне підвищення відсотка клітин із сильним ушкодженням ДНК (рис. 3).

Введення ЛПС призводило до погіршення життєздатності імуніцитів, що відбувалося за рахунок

посилення загибелі як за апоптотичним, так і за некротичним шляхом (рис. 4). При відтворенні ендотоксемії у мишей некротична загибель в клітинах як первинного, так і вторинного органів імунітету посилювалася в більшій мірі, що призводило до статистично значущого підвищення коефіцієнту некроз/апоптоз: в клітинах лімфовузлів з 0.31 ± 0.04 в контролі до 0.72 ± 0.18 при введенні ЛПС ($p < 0.05$); в клітинах тимуса з 0.23 ± 0.05 у контрольних тварин до 0.81 ± 0.23 у мишей з ЛПС ($p < 0.01$).

Доведено, що на відміну від апоптозу, загибель за некротичним типом (із розривом плазматичних мембран) відіграє значну патогенетичну роль у розвитку імуноопосередкованих хвороб [4]. Така загибель є прозапальною, за рахунок виходу клітинного вмісту, в тому числі прозапальних сигнальних молекул – алармінів. Крім того, некроз є імуногенним, оскільки провокує імунну відповідь на власні антигени, до яких імунна система не толерантна. Обидва зазначені

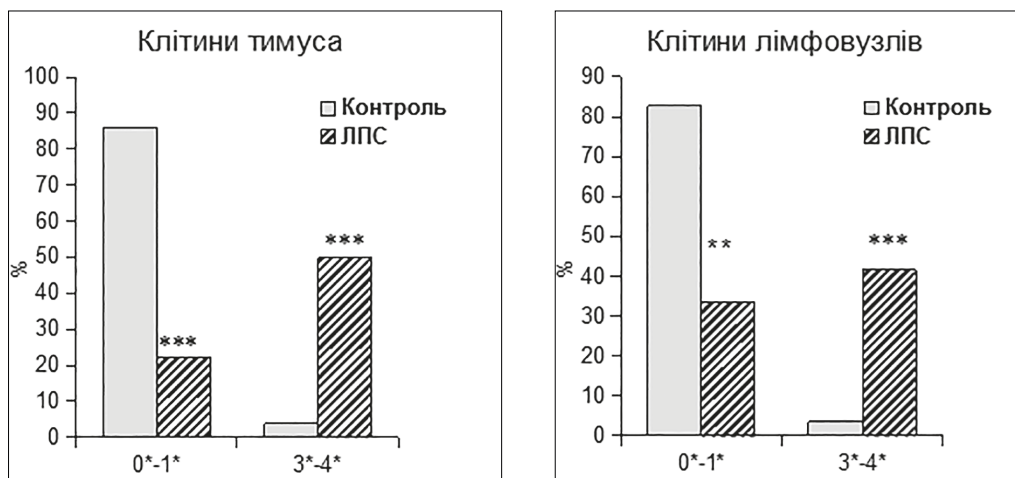


Рис. 3. Вплив введення ЛПС на відсоток клітин тимуса та лімфовузлів із неушкодженою або малоушкодженою ДНК (комети класів 0 та 1) та клітин із сильним ушкодженням ДНК (комети класів 3 та 4). ** – $P < 0.01$, *** – $P < 0.001$ по відношенню до контролю.

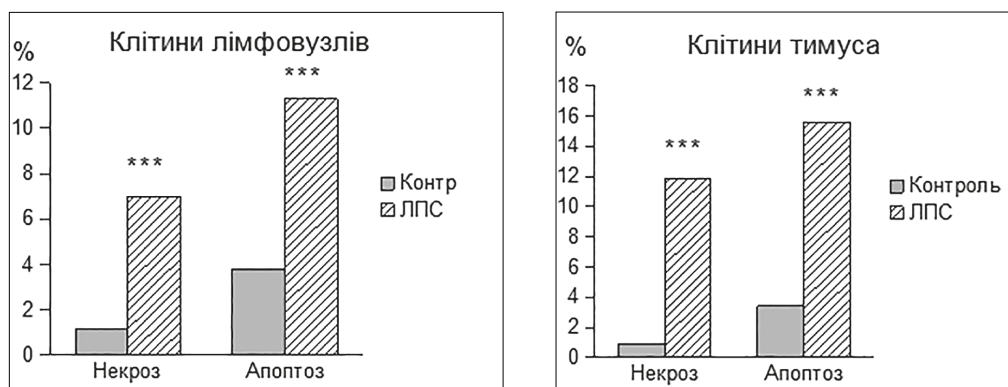


Рис. 4. Вплив введення ЛПС мишам на некротичну та апоптотичну загибель клітин лімфовузлів та тимусу. За віссю ординат – відсоток клітин з морфологічними проявами апоптозу або некрозу. *** – $P < 0.001$ по відношенню до контролю.

процеси спричиняють активацію клітин-ефекторів запалення, синтез ними прозапальних чинників, які, особливо АФК та азоту, спричиняють оксидативний та нітрозативний стрес клітин, сильне ушкодження ДНК та клітинну загибель. Посилення некрозу замикає позитивний зворотній зв'язок – порочне коло самопідсилення запалення, яке присутнє при багатьох хворобах, в тому числі обумовлених ЛПС [22]. Аналіз отриманих даних свідчить про те, що, незважаючи на різні етіологічні фактори розвитку патологічного процесу, відтворені моделі імуноопосередкованих захворювань мають як свої особливості, так і ряд суттєвих спільних рис.

ВИСНОВКИ

Застосування як БСА, так і ЛПС призводило до системного запального процесу зі значною нейтрофілією із зсувом лейкограми вліво. Відмічалось значне посилення функціонально-метаболічної активності клітин неспецифічної резистентності. Спостерігався генотоксичний стрес клітин тимуса та лімфовузлів із значним ушкодженням ДНК, зменшенням життєздатності та значним посиленням некротичної загибелі. Порушення цілості плазматичної мембрани внаслідок первинної альтерації і вихід клітинного вмісту назовні має сильний прозапальний та імуногенний ефект, що може призвести до подальшого посилення захворювання та збільшення його тривалості з тенденцією до хронізації патологічного процесу.

REFERENCES

1. Fenton K. The effect of cell death in the initiation of lupus nephritis. *Clin Exp Immunol.* 2015; 179(1):11-6. <https://dx.doi.org/10.1111%2Fcei.12417>
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cei.12417>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25041590/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4260891/>
2. Moore T.L. Immune Complexes in Juvenile Idiopathic

Arthritis. *Front Immunol.* 2016; 7:177. doi: 10.3389/fimmu.2016.00177. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00177>

View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00177/full>

PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27242784/>

PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4873492/>

3. Ward P.A., Fattahi F., Bosmann M. New insights into molecular mechanisms of immune complex-induced injury in lung. *Front Immunol.* 2016; 7:86. eCollection 2016. <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffimmu.2016.00086>.

View at:

Scopus: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00086/full>

PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27014266/>

PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4783387/>

4. Jog N.R., Caricchio R. The Role of Necrotic cell death in the pathogenesis of immune mediated nephropathies. *Clin Immunol.* 2014; 153(2):243-53. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2014.05.002>.

View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521661614001296?via%3Dihub>

PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24845790/>

PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4348018/>

5. Mistry P., Kaplan M.J. Cell death in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Clin Immunol.* 2017 Dec; 185:59-73. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.08.010>.

View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521661616302777?via%3Dihub>

PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27519955/>

PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5299061/>

6. Mahajan A., Herrmann M., Muñoz L.E. Clearance Deficiency and Cell Death Pathways: A Model for the Pathogenesis of SLE. *Front Immunol.* 2016; 7:35. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00035>.

View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/>

- articles/10.3389/fimmu.2016.00035/full
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26904025/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4745266/>
7. Buač M., Mojsilović S., Mišić D. et al. Circulating immune complexes of calves with bronchopneumonia modulate the function of peripheral blood leukocytes: In vitro evaluation. *Res Vet Sci.* 2016; 106:135-42. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.04.002>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528816300698?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27234551/>
 8. Grushka N., Makogon N., Pavlovych S. et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline exerts a protective effect against concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Journal of Health Sciences.* 2013; 3(11):463-8.
 9. Makogon N., Voznesenskaya T., Bryzgina T. et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor, 3-aminobenzamide, protects against experimental immune ovarian failure in mice. *Reproductive biology.* 2010; 10(3):215-26. [https://doi.org/10.1016/s1642-431x\(12\)60041-2](https://doi.org/10.1016/s1642-431x(12)60041-2)
View at:
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1642431X12600412?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21113202/>
 10. Jaiswal YK, Jaiswal MK, Agrawal V, Chaturvedi MM. Bacterial endotoxin (LPS)-induced DNA damage in preimplanting embryonic and uterine cells inhibits implantation. *Fertil Steril.* 2009 May; 91(5 Suppl):2095-103. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.04.050>.
View at: Publisher Site: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(08\)00965-5/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(08)00965-5/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18710718/>
 11. Magata F, Shimizu T. Effect of lipopolysaccharide on developmental competence of oocytes. *Reprod Toxicol.* 2017; 71:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.04.001>
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0890623817301004?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28408308/>
 12. Nemov V.V., Popkova M.I. [Method for detecting circulating immune complexes. Invention patent RU 2415430]. [in Russian].
View at: https://patents.s3.yandex.net/RU2415430C1_20110327.pdf
 13. Makogon N.V., Grushka N.G., Bryzgina T.M., Martynova T.V., Pavlovich S.I. et al. Cytoprotective effect of poly (adp-ribose) polimerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline in experimental immune-mediated hepatitis: dose dependence, mechanisms and therapeutic perspective. *Medical hydrology and rehabilitation.* 2015; 13(1-3):15-23 [in Ukrainian].
 14. Afanasieva K., Zazhytska M., Sivolob A. Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: Loops and fragments. *Electrophoresis.* 2010; 31(3):512-9. <https://doi.org/10.1002/elps.200900421>
View at: Publisher Site: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elps.200900421>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20119958/>
 15. Metcalf JA, Gallin JI. Nauseef WM. Root RK. Laboratory manual of neutrophil function. Raven Press, 1986. 191 p.
View at: URL: <https://www.amazon.com/Laboratory-Manual-Neutrophil-Function-Metcalf/dp/0881671606>
 16. Chopyak V.V., Valchuk I.V., Gayduchok I.G., Sadlyak O.V., Kachmarska M.O., H.P. Nykytiuk. [Hyperimmunocomplex syndrome in experiment and clinic]. *Bulletin of scientific research.* 2007; 1(46):5-8. [in Ukrainian].
 17. Radic M., Martinovic K.D., Radic J. Vascular manifestations of systemic lupus erythematosus. *Neth J Med.* 2013; 71(1):10-6.
View at: URL: <http://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=1256>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23412817/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/23412817>
 18. Mula R.V., Machiah D., Holland L. et al. Immune complex-induced, nitric oxide-mediated vascular endothelial cell death by phagocytes is prevented with decoy Fcγ receptors. *PLoS One.* 2016; 11:4:e0153620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153620>.
View at: Scopus: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0153620>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27101012/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4839578/>
 19. Bosques C.J., Manning A.M. Fc-gamma receptors: Attractive targets for autoimmune drug discovery searching for intelligent therapeutic designs. *Autoimmun Rev.* 2016; 15(11):1081-8. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.07.035>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S156899721630180X?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27491569/>
 20. Pavlovych S.I., Lytvynenko A.P., Makogon N. V., Martynova T. V., Bryzgina T.M., Yanchiy R. I. et al. [Immunomorphological characterization of mouse model of a systemic immunecomplexes mediated pathology]. *Bulletin of morphology.* 2014; 20(2):496-500 [in Ukrainian].
View at: URL: https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v_morf/visn_morf_2014-2.pdf
 21. Pechous RD. With friends like these: the complex role of neutrophils in the progression of severe pneumonia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017; 7:160. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00160>.
View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00160/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28507954/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5410563/>
 22. Li J, Zhong L, Zhu H, Wang F. The protective effect of cordycepin on d-galactosamine / lipopolysaccharide-

induced acute liver injury. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017:3946706. <https://doi.org/10.1155/2017/3946706>.
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2017/3946706/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28522898/>

PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5387844/>

Article history
Received: 27.04.2021
Revision requested: 09.05.2021
Revision received: 16.05.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНООПОСРЕДОВАННОМ ВОСПАЛЕНИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Павлович С.И., Грушка Н.Г., Кондрацкая Е.А., Красуцкая Н.А., Янчий Р.И.

Институт физиологии имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

krasutka@gmail.com

Актуальность. Иммуноопосредованное воспаление различного генеза играет существенную патогенетическую роль при аутоиммунных, аллергических, воспалительных и инфекционных болезнях.

Цель: сравнительное исследование функционального статуса и путей гибели клеток природного и адаптивного иммунитета мышей в условиях экспериментальной гипериммунокомплексемии и эндотоксемии для выявления особенностей и общих клеточных механизмов этих патологий.

Материалы и методы. Гипериммунокомплексимию моделировали шестикратной иммунизацией самок мышей возрастающими дозами антигена – бычьего сывороточного альбумина (БСА) раз в неделю, модель эндотоксемии воспроизводили путем введения липополисахарида (ЛПС).

Результаты. Применение как БСА, так и ЛПС приводило к системному воспалительному процессу со значительной нейтрофилией со смещением лейкограммы влево. Отмечалось значительное усиление функционально-метаболической активности клеток неспецифической резистентности. Наблюдался генотоксический стресс клеток тимуса и лимфоузлов с существенным повреждением ДНК, уменьшением жизнеспособности и значительным усилением некротической гибели. Нарушение целостности плазматической мембраны в результате первичной альтерации и выход клеточного содержания наружу имеет сильный провоспалительный и иммуногенный эффект, что может привести к дальнейшему усилению заболевания и увеличению его продолжительности с тенденцией к хронизации патологического процесса.

Вывод. Таким образом, обе модели характеризуются развитием иммуновоспалительных процессов, которые приводят к значительному повреждению ДНК и клеточной гибели, что может вызвать новый виток усиления некротических, воспалительных и аутоиммунных реакций в организме.

Ключевые слова: гипериммунокомплексемия, эндотоксемия, клетки иммунной системы, повреждение ДНК, клеточная гибель.

THE STATE OF THE CELLS OF THE IMMUNE SYSTEM IN EXPERIMENTAL IMMUNE-MEDIATED INFLAMMATION OF VARIOUS GENESIS

Pavlovych S.I., Grushka N.G., Kondratska O.A., Krasutka N.O., Yanchii R.S.

Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, Ukraine

krasutka@gmail.com

Relevance. Immune-mediated inflammation of various genesis plays a significant pathogenetic role in autoimmune, allergic, inflammatory and infectious diseases.

The objective of the work was a comparative study of the functional status and pathways of cell death of natural and adaptive immunity in mice under the conditions of experimental hyperimmunocomplexemia and endotoxemia to identify the features and common cellular mechanisms of these pathologies.

Materials and methods. Hyperimmunocomplexemia was simulated by six-fold immunization of female mice with increasing doses of the antigen, bovine serum albumin (BSA), once a week; the endotoxemia model was induced by the administration of lipopolysaccharide (LPS).

Results. The use of both BSA and LPS led to a systemic inflammatory process with significant neutrophilia with a shift of the leukogram to the left. There was a significant increase in the functional and metabolic activity of nonspecific resistance cells. Genotoxic stress was observed in thymus cells and lymph nodes with significant DNA damage, decreased viability, and a significant increase in necrotic death. Violation of the plasma membrane integrity of primary alteration and the release of the cellular content outside has a strong pro-inflammatory and immunogenic effect, which can lead to further intensification of the disease and an increase in its duration with a tendency to chronicity of the pathological process.

Conclusions. Thus, both models are characterized by the development of immune-inflammatory processes that lead to significant DNA damage and cell death, which can cause a new round of intensification of necrotic, inflammatory and autoimmune reactions in the body.

Key words: hyperimmunocomplexemia, endotoxemia, cells of the immune system, DNA damage, cell death.

ЕЛЕМЕНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ ЩУРІВ ЛІНІЇ ВІСТАР, ЯК ПРОЯВ АДАПТАЦІЇ, В ЕКСПЕРИМЕНТІ З НАВАНТАЖЕННЯМ МЕТАЛАМИ У ФОРМІ МІКРО- ТА НАНОЧАСТИНОК

Андрусишина І.М. <https://orcid.org/0000-0001-5827-3384>

Державна установа «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва
Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

andrusyshyna.in@gmail.com

Актуальність. Останніми роками для визначення стану адаптації широко застосовуються різні методики оцінки. Одним з відомих механізмів, що забезпечують адекватні реакції адаптації та резистентності організму до дії небезпечних факторів довкілля, є збільшення кількості внутрішньо- та міжсистемних зв'язків між вмістом мікроелементів (МаЕ) та мікроелементів (МЕ), як прояв надійного функціонування організму.

Ціль: розкрити найтипівіші етапи адаптації організму щурів за різних умов дії металів шляхом вивчення кореляційних залежностей між їх вмістом у різних біологічних середовищах та дати оцінку ступеня адаптації елементної системи.

Матеріали та методи. Визначення вмісту 14 хімічних елементів у цільній крові та ендокринних органах щурів лінії Wistar виконували з застосуванням мікрохвильової мінералізації проб та визначали методом ОЕС-ІЗП на приладі Optima 2100 DV. Проводились як оцінка їх співвідношень, так і аналіз кореляційних зв'язків між елементами, а також проводилась оцінка ступеню резистентності організму шляхом розрахунку індексу – ступеня адаптованості елементної системи організму (А) за формулою Р.М. Баєвського.

Результати. За умови інтраперитонеального введення солей металів (нітрати Ag, Al, Cr та Mn) ефекти дії характеризувалися стадією напруги для Al і Cr, стадії тренування відповідали зміні балансу елементів за умов введення солі Mn. Суттєвих порушень адаптації не встановлено за умов дії Ag. За умов перорального введення солей металів ступінь адаптованості була вищою для сполук Ag та Al, стадією напруги характеризувався вплив солей Mn і Cr на елементний гомеостаз. Порівняння дії наночастинок (НЧ) металів показало більшу адаптованість до дії НЧ оксидів Al та Ag і гіршу до дії НЧ цитратів Mn і Cr. Виявлено й статеві відмінності адаптації тварин до дії солей металів. Так, у самців за умов впливу Al адаптація характеризувалась стадією тренування, а у самок відповідь на дію Ag відповідала стадії напруги. Останнє дає підстави стверджувати про більшу чутливість щитоподібної залози самок до впливу Ag порівняно з самцями. Кореляційні залежності між вмістом металів і гормонів у тварин, експонованих сполукам Ag, Al, Cr, Mn, показали різноспрямований вплив Ag та Al на кореляційний зв'язок між вмістом металу та гормону І-ТГ. Якщо в контролі виявлено прямий кореляційний зв'язок між вмістом металів у крові та вільним Т4 для тварин усіх груп, то у досліді тільки за умови експозиції Al та Cr. Для гормону С-пептид (попередник інсуліну) достовірний кореляційний зв'язок виявлено тільки за умови експозиції Al та Mn.

Висновки. Вперше застосовано підхід до оцінки адаптації організму за показниками балансу МаЕ та МЕ, як проміжної ланки адаптаційного процесу ендокринної системи в експериментах на тваринах. Порівняння дії НЧ металів показало більшу адаптованість до дії НЧ оксидів Al та Ag і гіршу до дії НЧ цитратів Mn і Cr. Порівняння ефектів впливу мікрочастинок нітратів металів та НЧ оксидів і гідратів за ступенем адаптованості за показниками балансу елементів свідчить про більшу токсичність AgNO₃, Al(NO₃)₃, у той час як ступінь адаптованості за умови впливу Mn-Cr та Cr-Cr свідчить про їхню більш токсичну дію. Виявлено більшу чутливість самок до дії НЧ Ag₂O порівняно з самцями та зворотний ефект – за умови дії НЧ Al₂O₃. Отримані дані свідчать на користь існуючих уявлень про більш високу токсичність металів у формі наночастинок, ніж мікрочастинок, тобто НЧ цитратів мангану та хрому більш токсичні.

Ключові слова: адаптація, елементний гомеостаз, метали, мікро- та наночастинок металів

Актуальність. З позиції теорії адаптації, взаємозв'язок мікроелементного гомеостазу живих організмів з об'єктами зовнішнього середовища генетично детермінований. Порушення у будь-якому ланцюзі метаболізму живих організмів і людини, зокрема, впливають на функціональний стан, характер адаптації та відповідь на дію факторів зовнішнього середовища. Повноцінний вміст есенційних елементів і мінімальна присутність токсичних і умовно-токсичних елементів не несе загрози зриву адаптаційних механізмів організму, однак становить один з найважливіших компонентів нормального його функціонування [1].

Дисбаланс хімічних елементів в живому організмі безпосередньо впливає на функціонування практично всіх органів і систем, викликаючи значне напруження адаптаційних механізмів організму. Останнім роками у виробництво все більш активно впроваджуються новітні технології, застосовуються нові матеріали, що часто супроводжується збільшенням хімічного навантаження організму працюючих та населення. Тому актуальність досліджень у цьому напрямку є очевидною та обумовлена широким розповсюдженням Al, Ag, Cr, Mn в об'єктах довкілля, спектром промислового використання, поширенням нових технологій із залученням цих металів та можливостями впливу на

ендокринну функцію [1, 5-8], що обумовило необхідність проведення токсикологічних досліджень саме для цих хімічних елементів.

З урахуванням зазначеного, оцінка молекулярно-біологічних особливостей органів ендокринної системи, а також органів репродуктивної системи, які здійснюють різноманітний спектр захисних реакцій організму, має особливе значення при дослідженні стресу та адаптації під час дії металів.

Останніми роками для визначення стану адаптації широко застосовується різні методики. Так, за методикою, запропонованою Гаркаві і співав. (1986), для визначення загальних неспецифічних адаптаційних реакцій за формулою крові, згідно якої нормальна кількість лімфоцитів відповідає реакції тренування (активації), лімфопенія характеризує стрес, а підвищена кількість лімфоцитів свідчить про реакцію переактивації.

Для якісної оцінки ступеня резистентності організму на дію несприятливих чинників докільця запропонована Р.М. Баєвським і співавтор (2001) формула з урахуванням кореляційних зв'язків між макро- (МаЕ) та мікроелементами (МЕ) у біологічних середовищах (ступінь адаптованості – А). На думку цих авторів [1], одним з механізмів, що забезпечують адекватні реакції адаптації та резистентності організму до дії небезпечних факторів докільця, є збільшення кількості внутрішньо- та міжсистемних зв'язків між МаЕ та МЕ, як засіб надійного функціонування.

Ціль: розкрити найтипівіші етапи адаптації організму щурів за різних умов дії металів шляхом вивчення кореляційних залежностей між вмістом МаЕ та МЕ у різних біологічних середовищах щурів Wistar та оцінити ступінь адаптації елементної системи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження були проведені на статевозрілих щурах Wistar: самках (n=58) та самцях (n=96), масою 150-190 г, які утримувались в оптимальних умовах виварію. Всі маніпуляції проводилися у відповідності до положень біоетики. Тривалість пероральної експозиції складала 14 днів. Інтраперитонеальне введення сполук металів проводилось впродовж 30 днів. Дози за умов інтраперитонеального введення значно більші для Ag⁺ (у 10 разів), Mn⁺² (у 5 разів) та Cr (у 10 разів), ніж за умов перорального введення. Доза Ag⁺ складала 0,05 мг/кг маси тіла, що відповідає максимально безпечному рівню. Обрана доза Al⁺³ при пероральному введенні складала 0,5 мг/кг маси тіла, та не перевищує поріг загальнотоксичної дії. Доза Cr⁺³ становила 0,05 мг/кг, що нижче порогу токсичності у 460 разів. Доза Mn⁺² при пероральному введенні складала 0,50 мг/кг, що менше LD50 у 776 разів. Слід відзначити, що LD50 для багатьох наночастинок (НЧ) металів не встановлені, і тому їх дію вивчали у тих же концентраціях, як і солі металів (мікрочастинки – МК

). Розміри НЧ металів були наступними: НЧ Cr-Ctr – 40 нм, НЧ Mn-Ctr – 25 нм.

Біологічні середовища (цільна кров та ендокринні органи тварин – щитоподібна та підшлункова залози) відбирали згідно із загальноприйнятими методами відбору проб [1, 3]. Вміст 14 хімічних елементів (Ca, Mg, Al, Ag, As, Fe, Mn, Cu, Cd, Cr, Se, Pb, P, Zn) в пробах визначали за допомогою методу багатоелементного аналізу – оптико-емісійна спектроскопія з індуктивно зв'язаною плазмою (ОЕС-ІЗП) на приладі «Optima 2100 DV» фірми Perkin-Elmer (США) [3].

Для кількісної оцінки ступеня резистентності організму до дії несприятливих умов навколишнього середовища розраховували ступінь адаптованості елементної системи організму експериментальних тварин з подальшою інтерпретацією отриманих результатів за Р.М. Баєвським і співав. [2]. Оскільки хімічні елементи мають широкий спектр синергічних та антагоністичних взаємовідносин, проводились як оцінка їх співвідношень, так і аналіз кореляційних зв'язків між елементами та визначався ступінь резистентності організму шляхом розрахунку індексу – ступеня адаптованості елементної системи організму (А) за наступною формулою:

$$A = n \sum K_k / N,$$

де А – ступінь адаптованості, в ум од,

n – число кореляційних зв'язків з коефіцієнтом кореляції 0,5 та більше,

$\sum K_k$ – сума коефіцієнтів кореляції без урахування знаку,

N – число МаЕ та МЕ, об'єднаних у плеяди.

У зв'язку з цим, за запропонованою формулою, зростання кореляційних зв'язків свідчить про адаптаційну напругу між фізіологічними параметрами (стадію напруги), а у випадку успішної адаптації відбувається зменшення кореляційних зв'язків між ними.

Статистична обробка отриманих даних проведена з використанням пакету програм статистичного аналізу Statistica v.6.1., Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рядом досліджень [5-8] було показано, що перерозподіл функціональних навантажень на інші системи компенсує викликані порушення і не веде до зриву адаптації, явних дизрегуляторних порушень або розвитку патології. У зв'язку з цим, за запропонованою формулою, зростання кореляційних зв'язків свідчить про адаптаційну напругу між фізіологічними параметрами (стадію напруги), а у випадку успішної адаптації відбувається зменшення кореляційних зв'язків між ними.

За умови інтраперитонеального введення металів було встановлено високу чутливість ЩЗ самців щурів до дії Алюмінію (ступінь адаптованості (А) для співвідношень МаЕ та МЕ у тканині ЩЗ становить

57,45), що свідчить про порушення адаптації (табл. 1). Особливих змін адаптації на вплив Аргентуму (окрім зростання показника адаптованості А для ЩЗ) не виявлено. У цей самий час змінювалась ступінь адаптованості експериментальних щурів-самців до дії Мангану та Хрому. Спостерігали збільшення числа зв'язків МаЕ та МЕ у цільній крові (для Хрому) та тканині ЩЗ (більше для Хрому) та ПЗ (для Хрому). Таким чином, можна вважати більш руйнівною дію Хрому на самців-щурів за показником адаптованості (стадія напруги).

За умов перорального введення солей металів ступінь адаптованості мала наступні особливості (табл. 2). Збільшення числа зв'язків виявлено за умов дії Алюмінію та Мангану (цільна кров), для ЩЗ – за умов дії Мангану та Хрому, для ПЗ – Ag, Mn та Cr. Останнє свідчить про напругу адаптації тварин за умов перорального введення сполук металів. Було виявлено збільшення числа зв'язків за умов інтраперитоніального введення Алюмінію, Мангану та Хрому, що свідчить про напругу адаптації (стадія тренування) елементного гомеостазу у відповідь на дію цих металів.

Було розраховано ступінь адаптованості організму експериментальних тварин за умов перорального впливу НЧ металів (табл. 3). Виявлено зростання показника А за умов впливу НЧ Al_2O_3 та НЧ Mn-Cr.

За умов впливу НЧ Cr-Cr ступінь адаптованості ($A=11,68$) зростала, що свідчить про напругу адаптаційних процесів, які відбуваються в елементному гомеостазі. Ступінь адаптованості за показником А для МаЕ та МЕ, які визначені в тканині ПЗ, також

характеризувались стадією напруги адаптаційних процесів за умов пероральної дії НЧ Al_2O_3 та Mn-Cr та Cr-Cr. Таким чином, найбільш небезпечними для організму можна вважати дію Al ($A=22,67$), Mn ($A=30,0$) та Cr ($A=42,24$). Порівняння ефектів впливу нітратів металів та НЧ цих металів за ступенем адаптованості елементів свідчить про більшу токсичність $AgNO_3$ та $Al(NO_3)_3$, водночас ступінь адаптованості організму на дію $Mn(NO_3)_2$ та $Cr(NO_3)_3$ була вищою, тобто НЧ Mn-Cr та Cr-Cr є більш токсичними. У зв'язку з виявленим фактом високої чутливості організму самців до дії сполук Al нами було проведено порівняння ступеня адаптованості до дії сполук Al та Ag у самців і самок щурів (рис. 1).

Максимальна кількість зв'язків між елементами в крові виявлена у самок в умовах впливу Ag, що свідчить про напругу адаптаційних процесів і більш високу чутливість організму самок. У самців більше зв'язків виявлено за впливу Al, що свідчить про стадію тренування. Таким чином, можна стверджувати про більшу чутливість самок до дії Ag порівняно зі самцями, а ефект на дію Al – навпаки.

Таким чином, вивчені особливості елементного гомеостазу в піддослідних тварин за умов інтраперитонеального введення солей металів, які характеризувались *стадією напруги* для Al і Cr, *стадією тренування* відповідали зміні балансу елементів за умов введення солі Mn. Суттєвих порушень адаптації не встановлено за умов дії Ag. За умов перорального введення солей металів ступінь адаптованості була вищою для сполук Ag та Al, *стадією напруги* характеризувався вплив солей Mn і Cr на елементний го-

Таблиця 1

Ступінь адаптованості в самців щурів за умов інтраперитонеального введення нітратів Ag, Al, Mn, Cr

Орган	Контроль	Ag	Al	Контроль	Mn	Cr
Цільна кров	5,70	8,53	9,05	13,34	33,73	47,09
ЩЗ	15,07	17,38	57,45	15,52	36,90	48,42
ПЗ	10,68	11,53	10,72	8,74	64,69	165,87

Таблиця 2

Ступінь адаптованості організму самців щурів за умов перорального введення нітратів Ag, Al, Mn, Cr

Орган	Контроль	Ag	Al	Контроль	Mn	Cr
Цільна кров	7,90	8,30	10,93	8,30	11,51	7,25
ЩЗ	8,93	4,84	9,99	8,70	14,37	11,73
ПЗ	6,63	11,87	7,52	6,63	10,57	10,61

Таблиця 3

Ступінь адаптованості організму самців щурів за умов перорального введення НЧ оксидів Ag, Al та НЧ нітратів Mn, Cr

Орган	Контроль	Ag	Al	Контроль	Mn	Cr
Цільна кров	5,5	4,66	8,50	6,01	9,41	9,23
ЩЗ	6,98	5,5	5,13	9,5	9,31	11,68
ПЗ	7,40	7,43	9,04	7,40	11,28	21,33

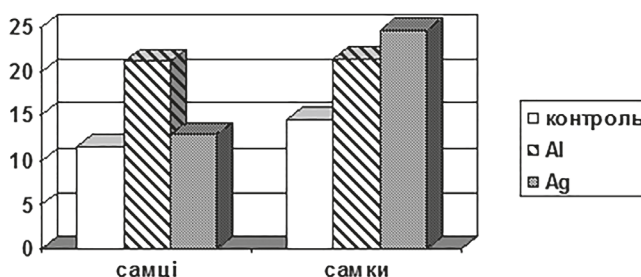


Рис. 1. Порівняльна оцінка показника адаптованості (А) у відповідь на дію сполук Ag та Al залежно від статі тварин

Таблиця 4

Кореляційні залежності між вмістом гормонів та металів у крові тварин, експонованих сполуками металів

Елемент	Показник					
	I-ТГ		вільний Т4		С-пептид	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Ag	0,19	-0,89	0,88	0,22	0,54	-0,16
Al	-0,11	0,79	0,84	0,60	-0,11	0,60
Mn	0,10	0,02	0,72	-0,09	0,93	0,44
Cr	-0,20	0,10	0,59	0,64	0,10	-0,08

меостаза. Порівняння дії НЧ металів показало більшу адаптованість до дії НЧ оксидів Al та Ag і гіршу – до дії НЧ цитратів Mn і Cr. Виявлено й статеві відмінності адаптації тварин до дії солей металів. Так, у самців за умов впливу Al адаптація характеризувалась стадією тренування, а у самок відповідь на дію Ag відповідала стадії напруги. Останнє дає підстави стверджувати про більшу чутливість ЩЗ самок до впливу Ag порівняно з самцями.

ВИСНОВКИ

1. Вперше застосовано підхід до оцінки адаптації організму за показниками балансу макроелементів та мікроелементів, як проміжної ланки адаптаційного процесу ендокринної системи в експериментах на тваринах.

2. Ступінь адаптованості елементного гомеостазу для тварин за умов інтраперитонеального введення металів була різною. Так, за умов дії Al відбувалась напруга елементного гомеостазу, у той час як за дії Ag суттєвих порушень адаптації не встановлено. У той самий час змінювалась ступінь адаптованості щурів до впливу Mn та Cr. Більш руйнівною була дія Cr на самців-щурів за показником адаптованості (стадія напруги). За умов перорального введення солей металів ступінь адаптованості характеризувалась стадією напруги за умови впливу Al, Mn.

3. Порівняння ефектів впливу мікроелементів нітратів металів та наночастинок оксидів і гідратів за ступенем адаптованості за показниками балансу елементів свідчить про більшу токсичність AgNO₃, Al(NO₃)₃, у той час як ступінь адаптованості наночастинок Mn-Cr та Cr-Cr свідчить про їхню більш

токсичну дію. Виявлено більшу чутливість самок до впливу наночастинок Ag₂O порівняно з самцями та зворотний ефект за умови дії наночастинок Al₂O₃.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Дослідження виконано за темами: «Наукове обґрунтування принципів, методів і показників експериментальної оцінки токсичності наночастинок і наноматеріалів (на прикладі важких металів)», № ДР 0113U001447.

REFERENCES

1. Kashapova RA. [Adaptation of an organism in the conditions of chemical pollution of small intensity]. Modern problems of science and education. 2015; 3. [in Russian] View at: Publisher site: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19710>
2. Baevsky R.M., Maksimov A.L., Berseneva A.P. [Fundamentals of human ecological valeology]. Magadan: SVSC FEB RAS, 2001. 267 p. View at: URL: <https://arktika.north-east.ru/publikatsii/101-izdaniya/149-2001>
3. Andrusishina I.M., Lampeka O.G., Golub I.O., Lubyanova I.P., Harchenko T.D. Guidelines 72.14 / 133.14 “Assessment of disorders of mineral metabolism in professional troops by the method coupled plasma atomic”. Kyiv: Avitsena, 2014. 56 p. [in Ukrainian]
4. Essays on the toxicology of heavy metals. Issue IV – Manganese, Chrome; Ed. IM. Trachtenberg. Kyiv: Avicsena, 2018. 88 p. [in Ukrainian] View at: Publisher site: <https://imtuik.org.ua/monografii.html>

- URL: https://imtuik.org.ua/upload-files/doc/mater_conf/2020-03-26/sbornik_AMU_18.pdf
- De Coster S., van Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: Associated disorders and mechanisms of action. *J. Environ. Public Health*. 2012; 2012:713696. <https://doi.org/10.1155/2012/713696>.
View at: Publisher site: <https://www.hindawi.com/journals/jeph/2012/713696/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22991565/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3443608/>
 - Iavicoli I., Calabrese E.J., Nascarella M.A. Exposure to nanoparticles and hormesis. *Dose Response*. 2010; 8(4): 501-17. <https://doi.org/10.2203/dose-response.10-016.iavicoli>
View at: Publisher site: <https://journals.sagepub.com/doi/10.2203/dose-response.10-016.iavicoli>
 - PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21191487/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2990066/>
 - Rana S.V. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals – a review. *Biol Trace Elem Res*. 2014; 160(1): 1-14. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0023-7>.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12011-014-0023-7>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24898714/>
 - Michalke D. Speciation in trace elements analysis: combination with metabolism and application to neurodegenerative disorders. *J. of Trace Elem*. 2017; 41 (S1): 8

Article history
Received: 02.05.2021
Revision requested: 19.05.2021
Revision received: 20.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ЭЛЕМЕНТНЫЙ ГОМЕОСТАЗ У КРЫС ЛИНИИ W1STAR, КАК ПРОЯВЛЕНИЕ АДАПТАЦИИ, В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С НАГРУЗКОЙ МЕТАЛЛАМИ В ФОРМЕ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ

Андрусишина И.М.

*Государственное учреждение «Институт медицины труда имени Ю. И. Кундиева
Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, Украина*

andrusyshyna.in@gmail.com

Актуальность. В последние годы для определения состояния адаптации широко применяются различные методики. Одним из механизмов, обеспечивающих адекватные реакции адаптации и резистентности организма к действию опасных факторов окружающей среды, является увеличение количества внутри- и межсистемных связей между содержанием макроэлементов (МаЕ) и микроэлементов (МЕ), как проявление надежного функционирования организма.

Цель: раскрыть типичные этапы адаптации организма крыс в различных условиях действия металлов путем изучения корреляционных зависимостей между содержанием МаЕ и МЕ в различных биологических средах и оценки степени адаптации элементной системы.

Материалы и методы. Определение содержания 14 химических элементов в цельной крови и эндокринных органах выполняли с применением микроволновой минерализации проб и определяли методом ОЭС-ИСП на приборе Optima 2100 DV. Проводились как оценка их соотношений, так и анализ корреляционных связей между элементами и оценка степени резистентности организма путем расчета индекса – степени адаптированности элементной системы организма (А) по формуле Р.М. Баевського.

Результаты. При интраперитонеальном введении солей металлов (нитраты Al, Cr и Mn) эффекты характеризовались стадией напряжения для Al и Cr, стадии тренировки соответствовали изменению баланса элементов в условиях введения соли Mn. Существенных нарушений адаптации не установлено в условиях действия Ag. В условиях перорального введения солей металлов степень адаптированности была выше для соединений Ag и Al, стадией напряжения характеризовалось влияние солей Mn и Cr на элементный гомеостаз. Сравнение действия наночастичек (НЧ) металлов показало большую адаптированность к действию НЧ оксидов Al и Ag и хуже к действию НЧ цитратов Mn и Cr. Выявлены и половые различия адаптации животных к действию солей металлов. Так, у самцов в условиях воздействия Al адаптация характеризовалась стадией тренировки, а у самок ответ на действие Ag отвечал стадии напряжения. Последнее дает основание утверждать о большей чувствительностью щитовидной железы самок к воздействию Ag по сравнению с самцами. Корреляционные зависимости между содержанием металлов и гормонов у животных, экспонированных соединениями Ag, Al, Cr, Mn, показали разнонаправленное влияние Ag и Al на корреляционные связи между содержанием металла и гормона И-ТГ. Если в контроле обнаружена прямая корреляционная связь между содержанием металлов в крови и свободным Т4 для животных всех групп, а в опыте только при условии экспозиции Al и Cr. Для гормона С-пептид (предшественник инсулина) достоверная корреляционная связь обнаружена только при условии экспозиции Al и Mn.

Выводы. Впервые применен подход к оценке адаптации организма по показателям баланса МаЕ и МЕ, как промежуточного звена адаптационного процесса эндокринной системы, в экспериментах на животных. Сравнение действия НЧ металлов показало большую адаптированность к действию НЧ оксидов Al и Ag и хуже – к действию НЧ цитратов Mn и Cr. Сравнение эффектов влияния микрочастиц нитратов металлов и НЧ их оксидов и гидратов по степени адаптированности элементной системы свидетельствует о большей токсичности AgNO₃, Al(NO₃)₃, в то время как степень адаптированности при действии НЧ Mn-Cr и Cr-Cr свидетельствует об их более высокой токсичности. Выявлено большую чувствительность самок к воздействию НЧ Ag₂O по сравнению с самцами и обратный эффект при условии действия НЧ Al₂O₃. Полученные данные, свидетельствуют в

пользу существующих представлений о более высокой токсичности металлов в форме наночастиц по сравнению с микрочастицами, то есть НЧ цитратов марганца и хрома более токсичны.

Ключевые слова: адаптация, элементный гомеостаз, металлы, микро- и наночастицы металлов.

ELEMENTAL HOMEOSTASIS IN WISTAR RATS AS A MANIFESTATION OF ADAPTATION IN AN EXPERIMENT WITH METAL LOADING IN THE FORM OF MICRO- AND NANOPARTICLES

Andrusyshyna I.M.

Governmental Institution “Yu.I. Kundiev Institute for Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

andrusyshyna.in@gmail.com

Relevance. In recent years, various methods have been widely used to determine the state of adaptation. One of the mechanisms providing adequate adaptation reactions and resistance of the organism to the action of hazardous environmental factors is an increase in the number of intra- and intersystem connections between the content of macronutrients and trace elements, as a means of reliable functioning of the organism.

Objective. To reveal the typical stages of adaptation of the organism of rats in different conditions of the action of metals by studying the correlation dependences between the content of macronutrients and trace elements in various biological media and assessing the degree of adaptation of the elemental system.

Materials and methods. Determination of the content of 14 chemical elements in whole blood and endocrine organs was performed using microwave mineralization of samples and was determined by the OES-ICP method on an Optima 2100 DV device. The assessment of their ratios and the analysis of correlations between the elements and the assessment of the degree of resistance of the organism by calculating the index - the degree of adaptation of the elemental system of the organism (A) according to the formula of R.M. Baevsky were carried out.

Results. The degree of adaptation of experimental animals to the action of Al and Ag, Cr and Mn compounds was estimated according to the proposed by R. M. Baevsky et al. [4] the formula, taking into account the correlations between macronutrients and trace elements in biological media (degree of adaptation - A). During intraperitoneal administration of metal salts, they were characterized by a stress stage for Al and Cr, the training stages corresponded to a change in the balance of elements under conditions of Mn salt administration. No significant violations of adaptation were found under the conditions of Ag action. Under the conditions of oral administration of metal salts, the degree of adaptation was higher for Ag and Al compounds, the stress stage was characterized by the effect of Mn and Cr salts on elemental homeostasis.

Comparison of the action of NPs metal showed a greater adaptation to the action of NPs of Al and Ag oxides and worse to the action of NPs of Mn and Cr citrates. Sex differences in adaptation of animals to the action of metal salts were also revealed. Thus, in males exposed to Al, adaptation was characterized by a training stage, while in females the response to Ag action corresponded to the stress stage. The latter gives grounds to assert that the thyroid gland is more sensitive to Ag than in males. Correlation dependences between the content of metals and hormones in animals, exposed to compounds Ag, Al, Cr, Mn, showed a multidirectional effect of Ag and Al on the correlation between the content of metal and hormone I-TG. If a direct correlation was found in the control between the content of metals in the blood and free T4 for animals of all groups, and in the experiment only under the condition of exposure to Al and Cr. For the hormone C-peptide (insulin precursor), a significant correlation was found. The bond was found only under the condition of exposure to Al and Mn.

Conclusions. For the first time, an approach was applied to assessing the adaptation of an organism in terms of the balance of macronutrients and trace elements as an intermediate link in the adaptation process of the endocrine system in animal experiments. Comparison of the action of metal NPs showed a greater adaptation to the action of NPs of Al and Ag oxides and worse to the action of NPs of Mn and Cr citrates. Comparison of the effects of MC effect of metal nitrates and NPs of their oxides and hydrates according to the degree of adaptation of the elementary system indicates a higher toxicity of AgNO₃, Al(NO₃)₃, while the degree of adaptation under the action of NPs Mn-Ctr and Cr-Ct indicates their higher toxicity. Females were found to be more sensitive to Ag₂O NPs than males, and the opposite effect was found under the conditions of Al₂O₃ NPs. The data obtained testify in favor of the existing ideas about the higher toxicity of metals in the form of nanoparticles compared to microparticles, that is, NPs of manganese and chromium citrates are more toxic.

Key words: adaptation, elemental homeostasis, metals, micro- and nanoparticles of metals.

ОСОБЛИВОСТІ ЕТАНОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТВАРИН ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНТЕРВАЛЬНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ НА ПОЧАТКУ СПОЖИВАННЯ АЛКОГОЛЮ

Козак Л.П. <https://orcid.org/0000-0003-3542-6848>

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Київ, Україна

kozak.l.p.lnmu@gmail.com

Актуальність. У дослідженнях показано широкий терапевтичний спектр впливу на організм інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ), здатного підвищувати резистентність організму до пошкоджуючих факторів за рахунок індукування механізмів економічного використання енергетичних ресурсів.

Ціль: дослідити захисний ефект ІГТ, застосованого на початку 30-денної алкоголізації щурів, на процеси перебігу окисно-відновних процесів та стан антиоксидантної системи крові та тканин печінки.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на білих щурах-самцях, яких було розділено на чотири групи: перша – інтактні (контроль); тварини другої групи як єдине джерело пиття отримували 15 % розчин етанолу упродовж 30 днів; третя – тварини за умов ІГТ; четверта – щури, у яких ІГТ застосовано на початку 30-денної алкоголізації. У процесі експерименту контролювали об'єм спожитого етанолу. ІГТ проводили у барокамері в наступному режимі: п'ятиразовий «підйом» на «висоту» 6000 м по 10 хв, перерви між експозиціями гіпоксії – 15 хв, тривалість тренувань – 10 днів, швидкість «підйому» – 20 м/с. Визначали активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази), загальну антиоксидантну активність (ІАОА), а також вміст молочної та піровиноградної кислот, малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів. Матеріалами досліджень були гомогенати тканин печінки та кров.

Результати. Установлено, що у адаптованих до ІГТ тварин алкогольна інтоксикація супроводжується збільшенням активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у крові та тканинах печінки відносно щурів, що споживали етанол як єдине джерело пиття. За цих умов виявлено тенденцію до наростання ІАОА та активності каталази відносно щурів, які тривалий час отримували етанол. При даній моделі у тварин спостерігається виражений потяг до алкоголю. Процес двофазний, що, очевидно, відображає етапність алкоголізації. Застосування на початку алкоголізації, як протекторного засобу, методу ІГТ відтермінує фазу формування вираженого потягу до етанолу та зменшує кількість добового споживання спирту.

Висновки. Таким чином, сеанси короткотривалих гіпоксичних впливів на початку хронічного споживання етилового спирту забезпечують зростання потужності антиоксидантного захисту цих тварин відносно алкоголізованих.

Ключові слова: інтервальне гіпоксичне тренування, етанол, гіпоксія, антиоксидантна система.

Актуальність. Інтервальне гіпоксичне тренування (ІГТ) – один з перспективних методів немедикаментозного підвищення функціональних резервів організму, який успішно застосовується у клініці та спорті упродовж багатьох років [1]. В основі методу лежить поступовий приріст гіпоксичної резистентності в результаті тренування фізіологічних механізмів компенсації гіпоксії [2]. До механізмів позитивного впливу гіпоксичних тренувань на фізіологічний стан організму, на думку багатьох дослідників, відноситься забезпечення повноцінного кровопостачання мозку, серця, м'язів та інших життєво важливих органів за рахунок розширення судин, зменшення дифузної відстані для надходження кисню з капілярів до міоцитів, підвищення концентрації міоглобіну [3]. По-друге, це збільшення здатності м'язової тканини вилучати кисень з крові та утворювати макроергічні сполуки за рахунок збільшення кількості мітохондрій, підвищення спряження окиснення і фосфорилування в ланцюгу дихальних ферментів [4]. По-третє, механізми, які спрямовані на збільшення анаеробних можливостей організму за рахунок активації гліколізу [3, 4].

Експериментальним обґрунтуванням інтервального режиму гіпоксії стали результати фундаментальних досліджень, в яких було встановлено, що у здорової людини в різних тканинах організму існують коливання напруження кисню, які періодично повторюються. У різних органах і тканинах створюється гіпоксія, в результаті чого здійснюється «тренування» механізмів кисневого забезпечення організму як в постнатальному, так і в пренатальному періоді. Найбільш фізіологічним вважають інтервальний режим гіпокситерапії, який відповідає закріпленим у філо- і онтогенезі людини механізму компенсації до дії факторів середовища існування [3, 4].

Взаємодія організму із етанолом розглядається, звичайно, як гомеостатичний процес, тобто процес пристосування організму до середовища та дає уявлення про загальні механізми токсичної дії на основі вчення про гомеостаз та адаптацію, що охоплює всі прояви патології від передпатологічних до екстремальних, урахуовуючи також постінтоксикаційні стани і віддалені наслідки [5, 6]. Унаслідок систематичного надходження значної кількості етанолу збільшується швидкість утворення і вміст

ацетальдегіду в печінці та мозку, що є основною причиною алкогольної інтоксикації. Для оцінки ступеня метаболічних порушень при дії етанолу актуальним є визначення міри активації процесів ПОЛ та збалансованість її системами антиокислювального захисту. У наших попередніх дослідженнях було показано, що вплив 15 % розчину етанолу впродовж 30 днів істотно видозмінює перебіг кисеньзалежних метаболічних реакцій, що специфічно проявляється у різних органах та системах. Установлено ефективність використання інтервального гіпоксичного тренування в комплексному лікуванні алкогольної інтоксикації [7].

Ціль: оцінити захисний ефект ІГТ, застосованого на початку 30-денної алкоголізації щурів, на процеси перебігу окисно-відновних процесів та стан антиоксидантної системи крові та тканин печінки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на білих щурах-самцях масою 0,18-0,22 кг, яких було розділено на чотири групи (по десять тварин у кожній): перша – інтактні (контроль); тварини другої групи як єдине джерело пиття отримували 15 % розчин етанолу упродовж 30 днів; третя – інтактні тварини за умов інтервального гіпоксичного тренування; четверта – щури, у яких ІГТ застосовано на початку 30-денної алкоголізації. У процесі експерименту контролювали об'єм спожитого етанолу. ІГТ проводили у барокамері в наступному режимі: п'ятиразовий «підйом» на «висоту» 6000 м по 10 хв, перерви між експозиціями гіпоксії – 15 хв, тривалість тренувань – 10 днів,

швидкість «підйому» – 20 м/с. З метою вивчення впливу хронічного вживання етанолу та дії ІГТ на стан антиоксидантної системи визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази [9], глутатіонпероксидази [10], загальну антиоксидантну активність (ІАОА) [11], а також вміст β -ліпопротеїнів (β -ЛП), молочної та пірвіноградної кислот [9]. Паралельно проводили визначення одного з проміжних продуктів перекисного окислення ліпідів – малонового діальдегіду [11] та вміст дієнових кон'югатів (ДК) [9]. За інтенсивністю реакцій ПОЛ робили висновок про функціональну повноцінність ліпідних структур, яка є показником стаціонарних біохімічних перетворень у клітині та в організмі в цілому. Матеріалами досліджень були гомогенати тканин печінки та кров. Досліди проводили відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту про захист тварин, що використовуються для наукових цілей (22.09.2010), Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (редакція від 13.02.20). Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Установлено, що у адаптованих до ІГТ тварин алкогольна інтоксикація супроводжується достовірним зниженням малонового діальдегіду в сироватці крові в порівнянні з інтактними тваринами та щурами з хронічним впливом етанолу (рис. 1) відповідно на 51 % та 47 %. Слід відмітити, що також спостерігалось зменшення концентрації МДА на 41 % відносно щу-

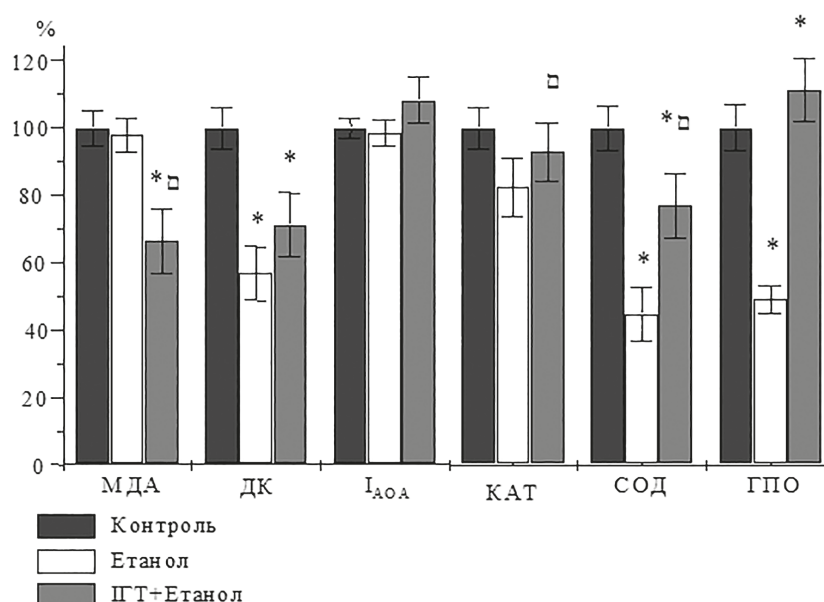


Рис. 1. Вплив інтервального гіпоксичного тренування на пероксидні та антиоксидантні процеси у крові алкоголізованих щурів.

Примітка: * – вірогідність ($p < 0,05$) порівняно з контролем, □ – вірогідність ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин, що споживали етанол

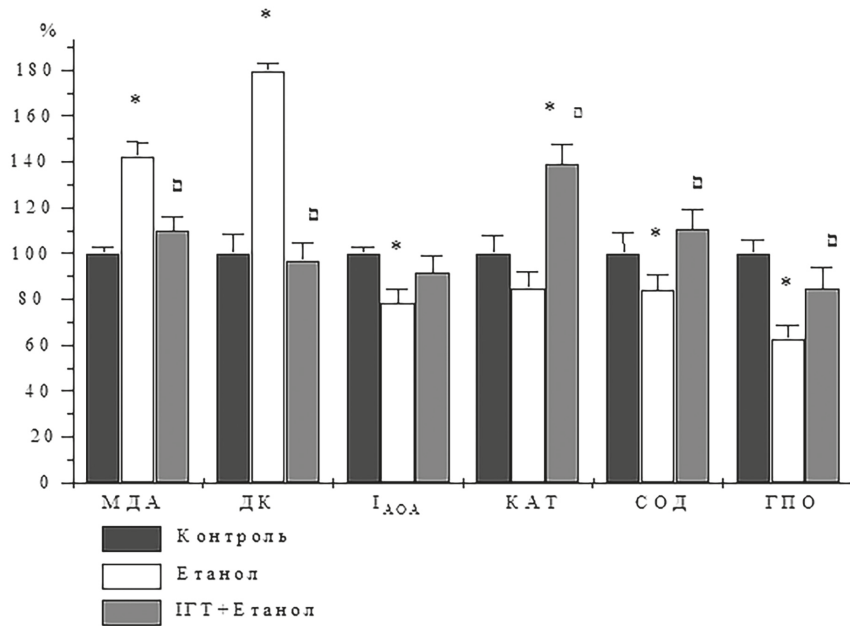


Рис. 2. Вплив інтервального гіпоксичного тренування на пероксидні та антиоксидантні процеси у печінці алкоголізованих щурів.

Примітка: * – вірогідність ($p < 0,05$) порівняно з контролем, □ – вірогідність ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин, що споживали етанол

рів з ІГТ. Вміст дієнових кон'югатів у крові зростає на 25 % порівняно з алкоголізованими тваринами, однак залишається нижчим відносно контролю та тварин з дією ІГТ на 29 % і 20 % відповідно. Зафіксовано збільшення на 72,2 % активності супероксиддисмутази відносно щурів, що споживали етанол як єдине джерело пиття, у яких вона становила $243,73 \pm 68,17$ од.акт/мл·хв. Спостерігали такі ж зміни активності глутатіонпероксидази, яка перевищувала у 2 рази аналогічний показник у алкоголізованих тварин. За цих умов виявлено тенденцію до наростання ІАОА та активності каталази відносно щурів, які тривалий час отримували етанол. Вміст β -ЛП вірогідно не відрізнявся від контрольних значень, а ступінь окиснювальності (МДА/ β -ЛП) менший на 21 % від контролю та 35 % від групи тварин, які були піддані ІГТ.

Отримані дані свідчать про те, що сеанси короткотривалих гіпоксичних впливів на початку хронічного споживання етилового спирту, забезпечують зростання потужності антиоксидантного захисту цих тварин відносно алкоголізованих.

Що стосується перебігу окисно-відновних процесів, експериментальними дослідженнями встановлено наступний характер змін молочної та піровиноградної кислот у крові щурів з хронічним впливом етанолу при застосуванні ІГТ на початку алкоголізації. Зафіксовано нагромадження молочної кислоти та збільшення співвідношення лактат/піруват на 50 % та 51 %, відповідно, відносно контрольних значень, що свідчить про те, що метаболічна компенсація енергетичного дефіциту реалізується, у основному, за рахунок аеробного гліколізу. Отримані експериментальні дані вказують на невірогідне нагромадження

продуктів ПОЛ у гомогенатах печінки (рис. 2). Рівень малонового діальдегіду склав 110 % від його вмісту в контролі. Одночасно була відзначена активація супероксиддисмутази (на 17,9 %). Однак, активність каталази була знижена на 18 %. Також відзначали тенденцію до зниження інтегративного ІАОА. Виявлена достовірна активація глутатіонпероксидази на 39 % відносно контролю.

Порівняння біохімічних показників крові у двох групах щурів, підданих впливу ІГТ на початку та після 30-тиденної алкоголізації, виявило невірогідне вищий вміст МДА у щурів з ІГТ, застосованим після 30-тиденного хронічного споживання етанолу. Відносно дієнових кон'югатів, то їх рівень на 5,6 % вищий у групі тварин з ІГТ на початку алкоголізації, ніж у тварин з ІГТ після 30-денної алкоголізації. При цьому вміст β -ЛП був зниженим у двох групах відносно контролю.

Аналіз стану АОС показав, що за умов дії ІГТ на початку хронічного споживання етанолу та після 30-ти денної алкоголізації, відзначено підвищення загальної АОА, судячи з індексу ІАОА, відносно контрольної групи. Хоча в групі щурів з впливом ІГТ на початку 30-ти денної алкоголізації зафіксовано зростання ІАОА на 12,4 %, що може реалізуватись і за рахунок вимивання в кров антиоксидантів неферментативної природи. Відносно ферменту антирадикальної дії СОД, то її активність була зниженою в двох групах відносно контролю. Хоча значніше зменшення активності СОД було у групі тварин з впливом ІГТ на початку алкогольної інтоксикації. Міра активації ГПО за умов впливу ІГТ на початку алкоголізації є у 2 рази більшою, ніж у групі з впливом ІГТ після

алкоголізації. При порівнянні проценту гемолізованих еритроцитів виявилося, що у групі з дією ІГТ після 30-денної алкоголізації він вищий, ніж у групі порівняння.

При співставленні результатів біохімічних досліджень у гомогенатах печінки (рис. 2) виявлено зростання концентрації МДА за умов впливу ІГТ на початку алкоголізації на 15 % відносно групи тварин з дією ІГТ після алкоголізації поряд зі зменшенням ДК у двох групах. Разом з тим, не було відмінностей між значеннями ІАОА у двох групах порівняння. Відносно активності ферментів АОЗ у гомогенатах печінки, то і активність каталази, і СОД зростала відносно контролю у двох групах, з переважанням підвищення активності КАТ у групі за умов впливу ІГТ на початку 30-денної алкоголізації на 9 % відносно групи тварин з ІГТ після алкоголізації. Активність ГПО була більшою на 25 % у групі щурів з впливом ІГТ після 30-денної алкоголізації відносно групи порівняння. При порівнянні результатів досліджень вмісту молочної та піровиноградної кислот у крові виявлено деякі особливості у залежності від досліджуваної групи. За умов впливу ІГТ після 30-денної алкоголізації спостерігається збільшення концентрації молочної та піровиноградної кислот на 10 % та у 2 рази, відповідно, відносно групи порівняння. Виявлено вірогідне збільшення співвідношення лактат/піруват у групі тварин з дією ІГТ на початку алкоголізації в 1,8 рази.

Як видно з рисунку 3, динаміка споживання тваринами 15% розчину етанолу, як єдиного джерела пиття, мала двофазний характер.

Перший максимум споживання етанолу спостерігається на 5 день, другий, більш виражений – на 15 день експерименту. Очевидно, до 5 днів проходить

процес звикання до етилового спирту, а після 10 днів алкоголізації, ближче до 15-го дня, формується виражений потяг до алкоголю, що супроводжується збільшенням дози етанолу, який тварини споживають. Не дивлячись на плавне зниження кривої споживання етанолу після 15-того дня, кількість випитого спирту в цей період була більшою, ніж у період звикання. У групі тварин, які починали вживати етанол одночасно з сеансами ІГТ, рівень його споживання поступово підвищується і сягає максимуму на 10-тий день. Очевидно, це пояснюється тим, що внаслідок проведення сеансів ІГТ формується виражений потяг до алкоголю повільніше, на відміну від групи тварин, які лише вживали етанол. На 15 день експерименту зареєстровано другий пік споживання етилового спирту, після чого, починаючи з 17 дня, спостерігається різке зменшення, а з 20 дня – плавне наростання кількості випитого етанолу в групі алкоголізованих тварин, які піддавались дії ІГТ, яка значно менша, ніж відповідні показники у тварин з алкогольною інтоксикацією.

ВИСНОВКИ

При даній моделі у тварин спостерігається виражений потяг до алкоголю. Процес двофазний, що, очевидно, відображає етапність алкоголізації. Застосування на початку алкоголізації, як протекторного засобу, методу ІГТ відтермінує фазу формування вираженого потягу до етанолу та зменшує кількість добового споживання спирту. Механізм захисного впливу ІГТ пов'язаний із мобілізацією як ензиматичних, так і неензиматичних систем АОЗ посередництвом залучення метаболітів вільнорадикального ПОЛ у обмінні процеси. Важлива перервність таких тренувань, так як саме періодично виникаючий гіпероксичний ефект при поверненні до нормоксії після

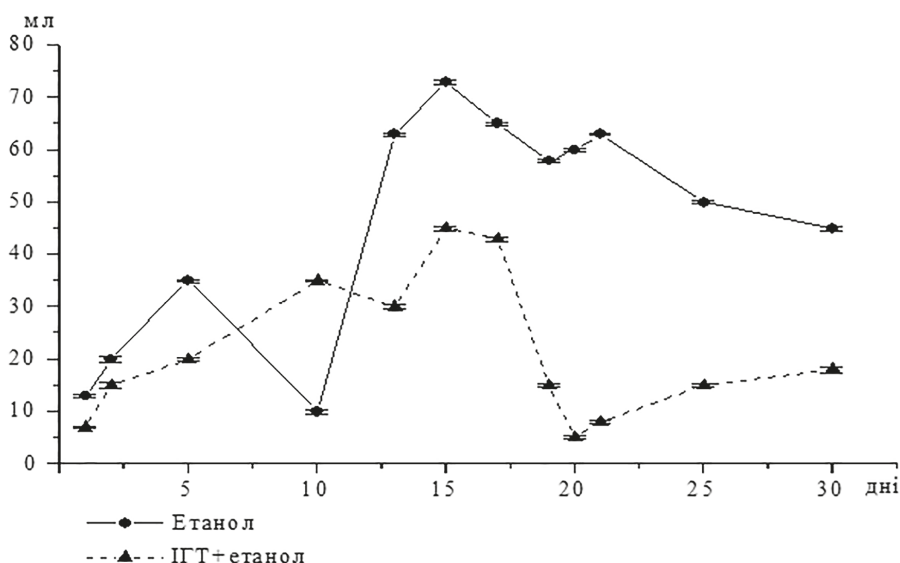


Рис. 3. Динаміка споживання 15% розчину етилового спирту щурами, яких піддавали впливу ІГТ на початку алкоголізації

сеансу гіпоксії може стати сигналом, який активує антиоксидантні системи організму.

REFERENCES

1. Serebrovska T.V., Serebrovska Z.O., Egorov E. [Fitness and therapeutic potential of intermittent hypoxia training: a matter of dose]. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2016; 62 (3): 78-91. [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz62.03.078>
2. Morton J.P., Cable N.T. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic and anaerobic performance. *Ergonomics*. 2005; 48 (11-14): 1535-46. <https://doi.org/10.1080/00140130500100959>
View at: Scopus: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00140130500100959>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16338719/>
3. Tymochko M.F., Alekseyevych Ya.Y., Bobkov Yu.H. [Peculiarities of oxygen balance in extreme conditions]. *Hypoxia Med. J.* 1996; 3: 8-12. [in Russian]
4. Tymochko M.F., Yeliseieva O.P., Kobylinska L.I., Tymochko I.F. [Metabolic aspects of oxygen homeostasis formation in extreme conditions]. Lviv, 1998. 141 p. [in Ukrainian].
5. Bardyna L.R., Pron'ko L.S., Satanovskaya V.Y. [The effect of acetaldehyde on ethanol- and acetaldehyde metabolizing systems of the liver and brain in rats]. *Ukrayins'kyi biokhimichnyy zhurnal*. 2003; 75(6): 129-33. [in Ukrainian].
6. Manzo-Aralos S., Soavedra-Molina A. Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2010; 7: 4281-304. <https://doi.org/10.3390/ijerph7124281>
View at: Publisher site: <https://www.mdpi.com/1660-4601/7/12/4281>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21318009/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037055/>
7. Kozak L.P., Terletska O.I., Kovalchuk S.M. [The role of oxidative metabolism in forming adaptive effect under ethanol influence and corrective action of impulse hypoxic training]. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2002; 48 (6): 74-99. [in Ukrainian] DOI: <https://doi.org/10.15407/fz>
View at: Scopus: <https://fz.kiev.ua/index.php?abs=236>
8. Kostuk V.A., Potapovych A.I., Kovaleva J.V. [A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin]. *Voprosy medycynskoyi khimiyi*. 1990; 36(2): 88-91. [in Russian]
View at: Publisher site: <http://pbmc.ibmc.msk.ru/ru/article-ru/PBMC-1990-36-2-88/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2363268/>
9. Kamyshnikov V.S. [Reference book on clinical and biochemical laboratory diagnostics]. 3rd ed. M.: MED press inform, 2009. 896 p. [in Russian].
View at: URL: https://balka-book.com/files/2017/09_05/12_38/u_files_store_3_413182.pdf
10. Moin V.M. [A simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes]. *Lab Delo*. 1986; 12: 724-7. [in Russian].
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2434712/>
11. Martyniuk V. B., Kovalchuk S. N., Tymochko M. F. The index of antioxidant activity of biological material. *Laboratornoe delo*. 1991; 3: 19-22.
12. Tymirbulatov R.A., Seleznev E.I. [The method of increasing the intensity of free radical oxidation of lipid-containing blood components and its diagnostic value]. *Laboratornoe delo*. 1981; 4: 209-11.

Article history
Received: 12.04.2021
Revision requested: 28.04.2021
Revision received: 27.05.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ОСОБЕННОСТИ ЭТАНОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ В НАЧАЛЕ ПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ

Козак Л.П.

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, Украина

kozak.l.p.lnmu@gmail.com

Актуальность. В исследованиях показан широкий терапевтический спектр воздействия на организм интервальной гипоксической тренировки (ИГТ), способной повышать резистентность организма к повреждающим факторам за счет индукции механизмов экономного использования энергетических ресурсов.

Цель: исследовать защитный эффект ИГТ, примененной в начале 30-дневной алкоголизации крыс, на процессы течения окислительно-восстановительных процессов и состояние антиоксидантной системы крови и тканей печени.

Материалы и методы. Исследование проведено на белых крысах-самцах, которые были разделены на четыре группы: первая – интактные (контроль); животные второй группы как единственный источник питья получали 15% раствор этанола в течение 30 дней; третья – животные в условиях ИГТ; четвертая – крысы, у которых ИГТ применено в начале 30-дневной алкоголизации. В процессе эксперимента контролировали объем потребленного этанола. ИГТ проводили в барокамере в следующем режиме: пятикратный «подъем» на «висоту» 6000 м по 10 мин, перерывы между экспозициями гипоксии – 15 мин, продолжительность тренировок – 10 дней, скорость «подъема» – 20 м/с. Определяли активность антиоксидантных ферментов

(супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы), общую антиоксидантную активность (IAOA), а также содержание молочной и пировиноградной кислот, малонового диальдегида и диеновых конъюгатов. Материалами исследований были гомогенаты тканей печени и кровь.

Результаты. Установлено, что у адаптированных к ИГТ животных алкогольная интоксикация сопровождается увеличением активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в крови и тканях печени относительно крыс, потреблявших этанол в качестве единственного источника питья. В этих условиях выявлена тенденция к нарастанию IAOA и активности каталазы относительно крыс, длительно получавших этанол. При данной модели у животных наблюдается выраженное влечение к алкоголю. Процесс двухфазный, что, очевидно, отражает этапность алкоголизации. Применение в начале алкоголизации, как протекторного средства, метода ИГТ переносит фазу формирования выраженного влечения к этанолу и уменьшает количество суточного потребления спирта.

Выводы. Сеансы краткосрочных гипоксических воздействий в начале хронического потребления этилового спирта обеспечивают рост мощности антиоксидантной защиты этих животных относительно алкоголизованных.

Ключевые слова: интервальная гипоксическая тренировка, этанол, гипоксия, антиоксидантная система.

PECULIARITIES OF ETHANOL INTOXICATION OF ANIMALS AT APPLICATION OF INTERMITTENT HYPOXIC TRAINING AT THE BEGINNING OF ALCOHOL CONSUMPTION

Kozak L.P.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

kozak.l.p.lnmu@gmail.com

Relevance. It was shown a wide therapeutic effects of intermittent hypoxic training (IHT) on the human organism which can increase the organism's resistance to damaging factors by inducing mechanisms of the safety use of energy resources.

The objective: to investigate the protective effect of IHT applied at the beginning of the 30-day alcohol intoxication of rats on the redox processes and the state of the antioxidant system of blood and liver tissues.

Materials and methods. The study was performed on white male rats, which were divided into four groups: the first - intact (control); animals of the second group received a 15% ethanol solution for 30 days as the only source of drink; third - animals under IHT; fourth - rats that IHT was applied at the beginning of 30 days alcohol intoxication. The amount of the consumed ethanol was monitored during the experiment. Intermittent hypoxic training was performed in the altitude chamber in the following mode: five 10-min "elevations" to a height of 6 km at a rate of 20 m/sec, intervals between the elevations being 30 min. The activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), total antioxidant activity (IAOA), as well as the content of lactic and pyruvic acids, malone dialdehyde and diene conjugates were determined. The research materials were homogenates of liver tissues and blood. The process is two-phase, which obviously reflects the stages of alcoholism.

Results. It was found that alcohol intoxication of animals adapted to IHT is accompanied by an increase in the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in the blood and liver tissue against rats that consumed ethanol as the only source of drink. A tendency to increase IAOA and catalase activity against rats that received ethanol for a long time under these conditions was revealed. Analyzing the process of consumption of ethanol solution by animals, we can conclude that animals have a pronounced craving for alcohol in this model of alcoholization. The application of IHT at the beginning of alcohol intoxication as a protective agent delays the phase of formation of a pronounced craving for ethanol and reduces the amount of daily alcohol consumption.

Conclusions. Thus, sessions of short-term hypoxic effects at the beginning of chronic ethanol consumption, provide an increase in the antioxidant defence of these animals relative to rats with alcohol intoxication.

Key words: intermittent hypoxic training, ethanol, hypoxia, antioxidant activity.

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ МІОКАРДА
ПРИ ЙОГО ДІАСТОЛІЧНОМУ ПЕРЕВАНТАЖЕННІ**¹*Балабай А.А.* <https://orcid.org/0000-0001-6716-5334>²*Крикунов О.А.* <https://orcid.org/0000-0001-7769-458X>²*Семенів П.М.* <https://orcid.org/0000-0001-8382-925X>²*Руденко О.В.* <https://orcid.org/0000-0003-3640-566X>²*Захарова В.П.* <https://orcid.org/0000-0003-3139-0366>¹*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна*²*Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М.М. Амосова, Київ, Україна*

alina.balabai@gmail.com

Актуальність. Адаптація камер серця до перевантаження їх об'ємом, що наростає під час діастолічного наповнення лівого шлуночка (ЛШ), або систолічної регургітації у ліве передсердя (ЛП) при недостатності мітрального клапана (НдМК), призводить до ремоделювання міокарда даних камер. Поздовжня гіпертрофія кардіоміоцитів (КМЦ), що реалізується за рахунок нарощування нових саркомерів на кінці вже існуючих міофібрил, є механізмом адаптації на ранніх етапах, але з часом переходить у дезадаптацію, що призводить до серцевої недостатності. Пошкоджені при декомпенсації гіпертрофовані КМЦ замінюються сполучною тканиною внаслідок надлишкової активації фібробластів з відкладанням позаклітинного матриксу, що також є елементом ремоделювання міокарду. Прогресування серцевої недостатності пов'язане також із невідповідністю між кровопостачанням та потребою міокарда у кисні, оскільки зростання розмірів КМЦ супроводжується розрідженням інтрамуральної сітки мікросудин. Вважається, що порушення співвідношення розмірів серця, ангиогенезу та серцевої функції є основою переходу адаптивної компенсації серця до декомпенсації з прогресуванням серцевої недостатності.

Ціль: вивчення морфологічних змін міокарда ЛШ і ЛП хворих з НдМК.

Матеріали та методи. Макроскопічно стан міокарда вивчали на матеріалі 14 розтинів пацієнтів, які померли від недостатності НдМК. Анамнез НдМК – від 3 міс. до 2,4±1,1 років. В якості контролю вивчали серця 3 померлих без кардіопатології. Матеріалом для світлової мікроскопії слугували шматочки міокарда з різних сегментів ЛШ, а також зі стінок ЛП, отримані під час аутопсії. Були використані морфологічні (макроскопічний, гістологічний та електронномікроскопічний), морфометричний та статистичний методи дослідження.

Результати. При дилатації ЛШ, пов'язаній з хронічною НдМК, видовження кожного КМЦ забезпечує збільшення площини стінок міокарда, і відповідно – розмір порожнини відповідної камери серця, що до певної міри компенсує збільшення діастолічного об'єму крові у ЛШ та систолічного – у ЛП. Проте фактором, який обмежує цей механізм компенсації, є дефіцит мікроциркуляторного русла міокарда, пов'язаний з лімітованим ростом капілярів. Протиріччя між потребою міокарда у видовженні КМЦ та нездатністю капілярів забезпечити їх киснем призводить до зриву компенсації з наростанням фіброзних змін. Це є фактором, що обмежує подальше збільшення об'єму порожнини.

Висновки. Перевантаження міокарда об'ємом призводить до збільшення довжини КМЦ в середньому з 57,3±9,1 мкм до 93,7±12,4 мкм. Збільшення довжини КМЦ здійснюється за рахунок зростання кількості саркомерів в них з 43,7±8,4 до 62,5±14,5. Діаметр КМЦ при цьому збільшується не достовірно. Перевантаження порожнини серця об'ємом часто супроводжується десинхронізацією скорочення КМЦ, що призводить до порушення цілісності міоцитарного «робочого синцитію» і вираженого інтерстиційного фіброзу.

Ключові слова: перевантаження міокарда об'ємом, дилатація лівого шлуночка серця, поздовжня гіпертрофія кардіоміоцитів.

Актуальність. Адаптація камер серця до перевантаження їх об'ємом, що наростає під час діастолічного наповнення лівого шлуночка (ЛШ), або систолічної регургітації у ліве передсердя (ЛП) при недостатності мітрального клапана (НдМК), призводить до ремоделювання міокарда даних камер [1, 2]. В ремоделюванні міокарда приймають участь кардіоміоцити (КМЦ), фібробласти, ендотеліальні клітини, гладенько-м'язові клітини та клітини гематопоетичного походження, проте центральну роль у перебудові міокарда, за даними літератури, відіграють КМЦ [3, 4]. Існує думка, що перерозтягнення міокарду стимулює у КМЦ синтез нових саркомерів, з яких складаються нові міофібрили. Автори не ви-

ключать також і можливість розщеплення існуючої міофібрили уздовж поздовжньої вісі на дві нові міофібрили [5]. Однак ці дослідники вивчали дану проблему в умовах статичного розтягування міокарда, тоді як фізіологічне перевантаження камер серця об'ємом носить пульсуючий характер. У більшості джерел літератури відмічається, що так звана поздовжня гіпертрофія КМЦ реалізується за рахунок нарощування нових саркомерів на кінці вже існуючих міофібрил [6].

Гіпертрофія КМЦ є механізмом адаптації на ранніх етапах, але з часом переходить у дезадаптацію, що призводить до серцевої недостатності [2]. Пошкоджені при декомпенсації гіпертрофовані КМЦ замі-

щуються сполучною тканиною внаслідок надлишкової активації фібробластів з відкладанням позаклітинного матриксу, що також є елементом ремоделювання міокарду. Цей процес також можливо віднести до категорії адаптивного, проте надлишковий фіброз часто закінчується змінами серцевої архітекtonіки, втратою КМЦ з важким порушенням ритму серця та скорочувальної функції міокарду [7, 8].

Прогресування серцевої недостатності відбувається не тільки за рахунок гіпертрофії КМЦ та міокардіального фіброзу. Воно пов'язане також із невідповідністю між кровопостачанням та потребою міокарда у кисні, оскільки зростання розмірів КМЦ супроводжується розрідженням інтрамуральної сітки міросудин [9]. Вважається, що порушення співвідношення розмірів серця, ангиогенезу та серцевої функції є основою переходу адаптивної компенсації серця до декомпенсації з прогресуванням серцевої недостатності [4].

Перевантаження об'ємом лівих камер серця переважно буває пов'язане з первинною НдМК різного генезу. Проте, регургітація на мітральному клапані може виникати і вторинно в результаті первинної дилатації міокарду разом із фіброзним кільцем клапану. В деяких випадках за умов дилатаційної кардіоміопатії (ДКМП) для встановлення етіології захворювання доводиться вдаватися до біопсії міокарда [10]. Аналізуючи отримані мікропрепарати, необхідно диференціювати зміни міокарда, що були викликані первинним етіологічним фактором, від тих, що виникли вторинно в результаті відносної НдМК та перевантаження лівих камер серця об'ємом.

Ціль: вивчення морфологічних змін міокарда внаслідок перевантаження об'ємом міокарда ЛШ і ЛП хворих з НдМК.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У роботі були використані морфологічні (макроскопічний, гістологічний та електронномікроскопічний), морфометричний та статистичний методи дослідження. Макроскопічно стан міокарда при перевантаженні серця об'ємом вивчали на матеріалі 14 розтинів пацієнтів, які померли від недостатності НдМК. Із історії хвороби відомо, що у 2 пацієнтів був відносно недовгий анамнез НдМК (3 та 6 міс.), що розвинулась в результаті розриву хорд при синдромі Барлоу. Інші хворі страждали від НдМК різного генезу в середньому $2,4 \pm 1,1$ роки. В якості контролю вивчали серця 3 померлих без кардіопатології. Матеріалом дослідження для світлової мікроскопії слугували шматочки міокарда з різних сегментів ЛШ, а також зі стінок ЛП, отримані під час аутопсії. Тканинні зразки фрагментів міокарда фіксували розчином 10 % нейтрального формаліну при кімнатній температурі, проводили через спирти наростаючої концентрації та заливали парафіном за загальноприйнятою методи-

кою. Парафінові зрізи товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксилином і еозином для проведення оглядової мікроскопії. Для визначення стану сполучної тканини застосовували фарбування за ван Гізоном. Стан еластичних волокон оцінювали після фарбування препаратів фукселином за Вейгертом. Для виявлення компонентів крові використовували методику MSB у модифікації Зербіно-Лукасевиц «оранжевий-червоний-блакитний» (ОЧБ), що дає змогу оцінити також функціональний стан КМЦ [11].

Для дослідження методом електронної мікроскопії матеріал отримували під час операцій 6 хворих з НдМК із зони операційного доступу (ЛП) у стані кардіоплегії. Фіксацію матеріалу проводили розчином 2,5 % глютарового альдегіду на какодилатному буфері з дофіксацією в 1 % розчині OsO₄. Зневоднювали у спиртах 70, 80, 90, 100 % концентрації та ацетоні. Заливали в суміш епон-аралдиту відповідно до загальноприйнятої методики. Препарати досліджували під електронними мікроскопом ПЕМ-125К.

Морфометрично на поздовжніх зрізах під світловим мікроскопом при збільшенні об'єктиву 400 вимірювали діаметр КМЦ та їх довжину по відстані між вставними дисками двох послідовних клітин. Потім оцінювали кількість саркомерів у 10 мкм та визначали кількість саркомерів у КМЦ за формулою: $N = (L : 10) \times n$ (N – кількість саркомерів в КМЦ, L – довжина КМЦ, n – кількість саркомерів у 10 мкм). Середньоарифметичне значення морфометричних даних визначали на 75-80 клітинах. При статистичній обробці даних використовували критерій Ст'юдента для порівняння показників у двох групах.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При макроскопічному дослідженні сердець було видно, що у всіх секційних випадках порожнини ЛШ та ЛП були збільшені за рахунок розтягування їх стінок із незначним потовщенням.

При мікроскопії препаратів сердець хворих з недовгим анамнезом НдМК звертало на себе увагу збільшення подовжніх розмірів КМЦ і неоднорідність їх за товщиною та тінкторіальними властивостями (рис. 1).

Більш темні компактні фрагменти м'язових волокон переходили у потовщені розпушені ділянки, що подекуди супроводжувалося розривами міжміоцитарних зв'язків та порушенням структур КМЦ. Окремі клітини були хвилясто деформовані.

За умов тривалого перебігу хвороби було видно, що у багатьох полях зору КМЦ витончувалися, втрачали зв'язок з іншими клітинами, дисоціювалися. Ядра в таких клітинах були зазвичай витягнутими. Ендомізій навколо КМЦ був розпушеним, при світловій мікроскопії в ньому не диференціювалися капіляри (рис. 2А). При електронномікроскопічному дослідженні в препаратах ЛП

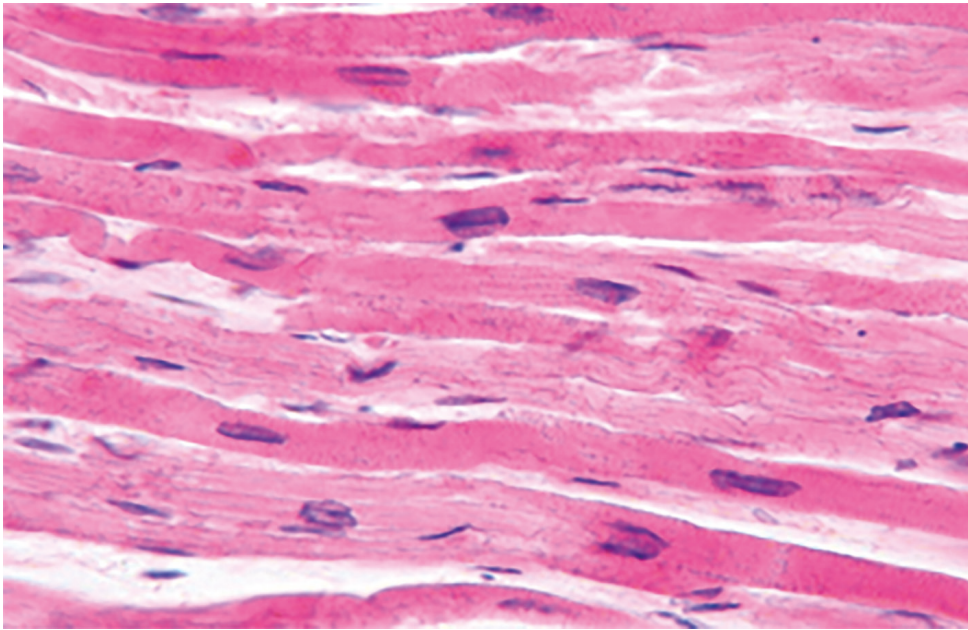


Рис. 1. Мікрофотографія: подовжній зріз стінки дилатованого ЛШ серця (НдМК 3 міс). Забарвлення гематоксилином та еозином, зб. x 400.

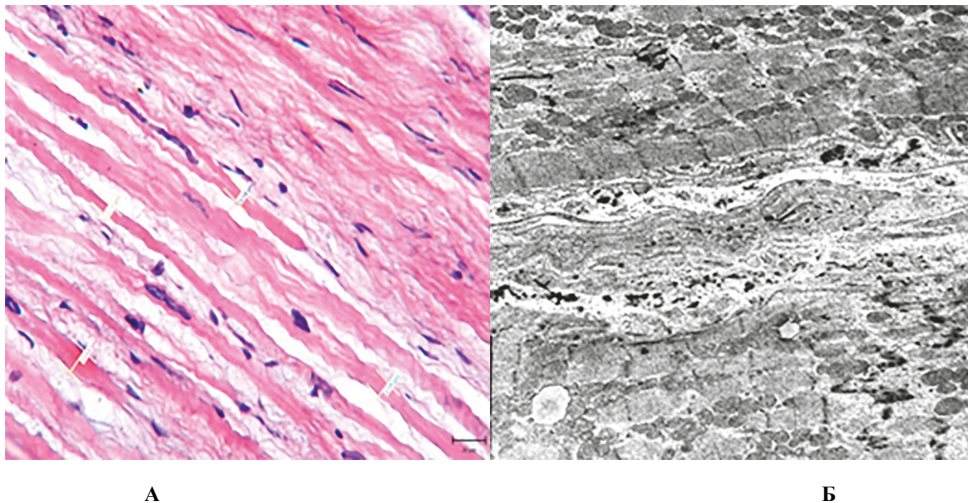


Рис. 2. Зміни КМЦ та капілярів при хронічній НдМК. А – мікрофотографія: подовжній зріз стінки дилатованого ЛП серця (НдМК 29 міс). Забарвлення гематоксилином та еозином, зб. x 200. Б – електронна мікрофотографія, зб. x 4000.

можна було зустріти дуже тонкі сплюснені запустілі капіляри (рис. 2Б).

Багато з вище описаних ознак (різниця у забарвленні, деформація КМЦ, розриви м'язових волокон) можливо пояснити порушенням синхронності та інтенсивності скорочень КМЦ. На електронних мікрофотографіях іноді зустрічались розташовані поруч КМЦ, один з яких, судячи за рисунком його сарколеми, знаходився у стані скорочення, другий – у стані розслаблення (рис. 3А). Можливо, це пов'язано з різним ступенем кисневого забезпечення цих клітин унаслідок дефіциту капілярного кровотоку. Проте частіше ознаки перескорочення КМЦ реєструвались на більш поширених ділянках міокарду (рис. 3Б).

При цьому в розслаблених частинах міоцитарних волокон відмічався виражений набряк цитоплазми з витонченням та деструкцією міофібрил (рис. 4 А, Б).

Такі зміни призводили до фрагментації міокардіального «робочого синцитію» та розростання інтерстиціальної фіброзної тканини (рис. 5).

У одного хворого із суправентрикулярною миготливою аритмією в препаратах ЛП були знайдені ознаки жирової інфільтрації міокарда, аналогічної тим, що бувають у стінках правого шлуночка серця за умов аритмогенної кардіоміопатії (рис. 6).

Результати морфометричних досліджень наведені у таблиці 1, з якої видно, що при перевантаженні міокарда об'ємом не відбувається достовірного, у

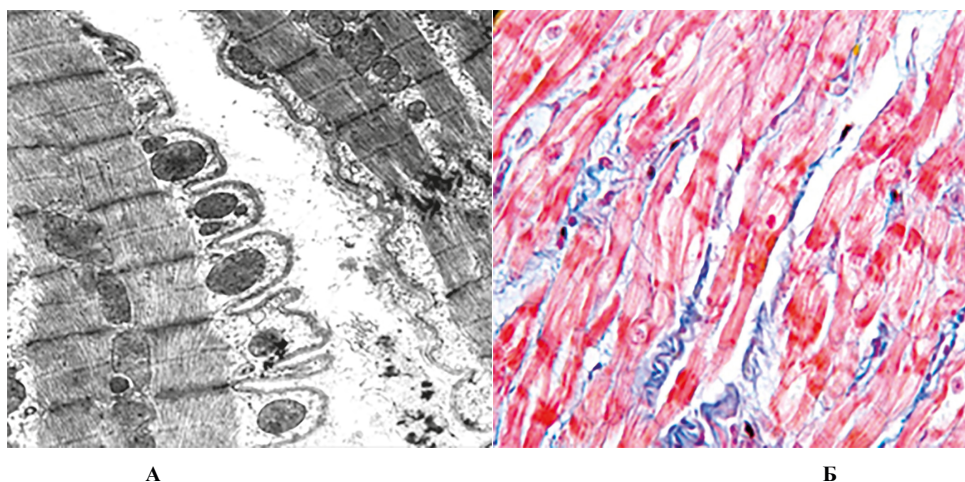


Рис. 3. Десинхронізація скорочення КМЦ. А – електронна мікрофотографія: фрагменти двох КМЦ, зб. х 12000; Б – мікрофотографія: перескорочення КМЦ ЛШ, забарвлення ОЧБ, зб.х200.

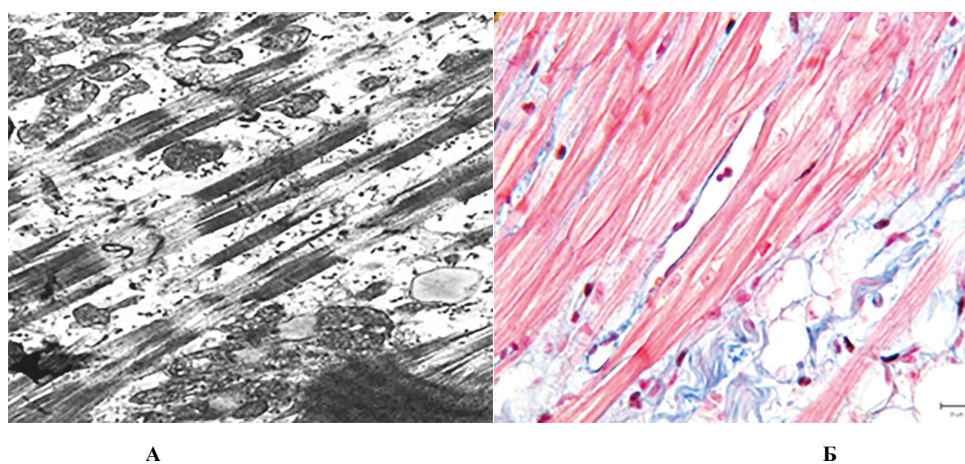


Рис. 4. Набряк цитоплазми, витончення та деструкція міофібрил КМЦ. А – електронна мікрофотографія, зб. х 12000. Б – мікрофотографія, забарвлення ОЧБ, зб. х 400.

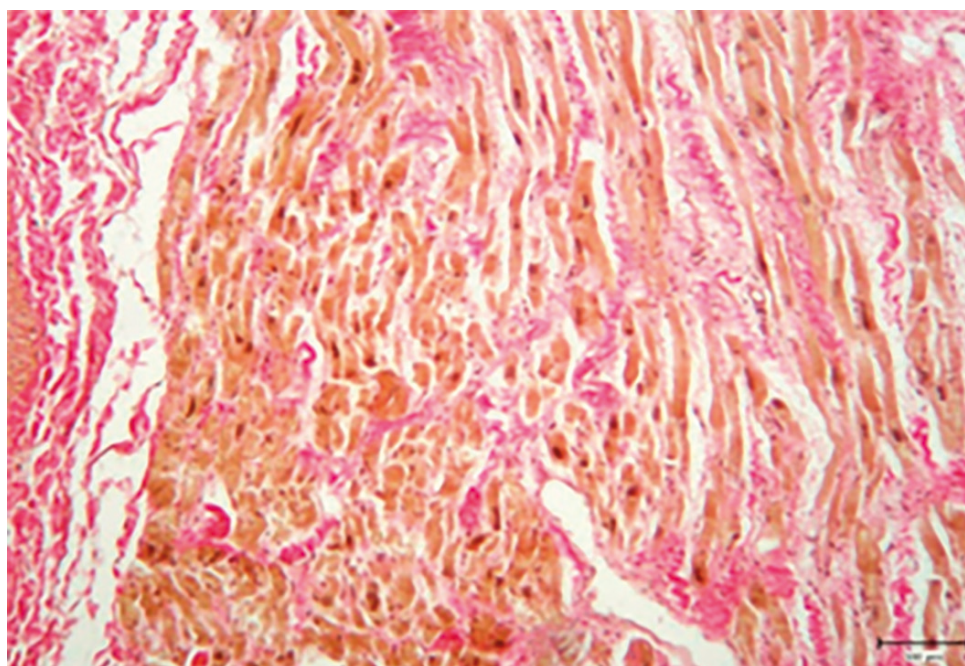


Рис. 5. Мікрофотографія міокарду за умов хронічної НдМК. Фрагментація видовжених м'язових волокон, виражений інтерстиційний фіброз. Забарвлення за ван Гізон, зб.х100.

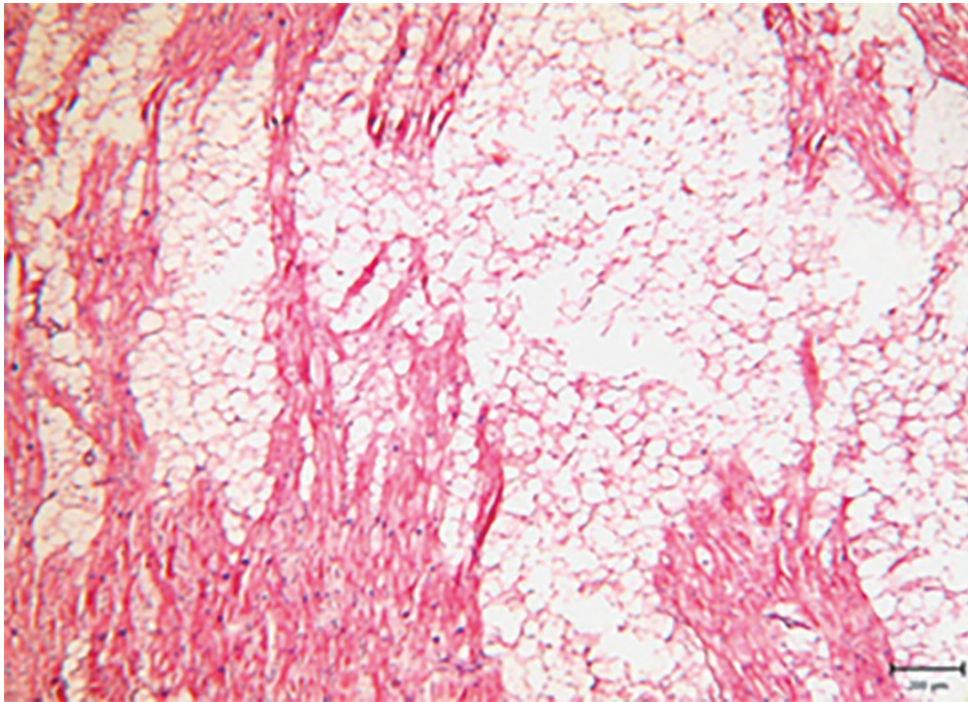


Рис. 6. Мікрофотографія. Жирова інфільтрація стінок ЛП у хворого з НдМК та миготливою аритмією. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. x 40.

порівнянні з контролем, збільшення діаметру КМЦ ($20,3 \pm 6,2$ мкм проти $17,1 \pm 3,2$ у контролі). Середня кількість саркомерів в КМЦ в контролі дорівнює $43,5 \pm 8,4$, а при діастолічному перевантаженні – $62,5 \pm 14,5$. Тобто, при перевантаженні міокарда об'ємом відбувається видовження КМЦ за рахунок збільшення кількості саркомерів.

Видовження кожного КМЦ забезпечує збільшення площини стінок міокарда, і відповідно – розмір порожнини відповідної камери серця, що до певної міри компенсує збільшення діастолічного об'єму крові у ЛЛШ та систолічного – у ЛП. Проте фактором, який обмежує цей механізм компенсації, є дефіцит мікроциркуляторного русла міокарда [9], пов'язаний з лімітованим ростом капілярів. Це вірогідно обумовлене тим, що на венозному кінці дуже довгого капіляра його стінки та оточуючі КМЦ потерпали б від гіпоксії через елімінацію кисню з еритроцитів в його артеріальній частині. Протиріччя між потребою

міокарда у видовженні КМЦ та нездатністю капілярів забезпечити їх киснем призводить до зриву компенсації з наростанням фіброзних змін. Це є фактором, що обмежує подальше збільшення об'єму порожнини.

ВИСНОВКИ

Перевантаження міокарда об'ємом призводить до збільшення довжини КМЦ в середньому з $57,3 \pm 9,1$ мкм до $93,7 \pm 12,4$ мкм.

Збільшення довжини КМЦ здійснюється за рахунок зростання кількості саркомерів в них з $43,7 \pm 8,4$ до $62,5 \pm 14,5$.

Діаметр КМЦ при цьому збільшується не достовірно.

Перевантаження порожнин серця об'ємом часто супроводжується десинхронізацією скорочення КМЦ, що призводить до порушення цілісності міоцитарного «робочого синцитію» і вираженого інтерстиційного фіброзу.

Таблиця 1

Дані морфометрії КМЦ сердець різних груп

Показники	Групи	
	Контроль, 75 клітин	Повздовжня гіпертрофія, 80 клітин
Загальна довжина (мкм)	$57,3 \pm 9,1$	$93,7 \pm 12,4^*$
Діаметр КМЦ (мкм)	$17,1 \pm 3,2$	$20,3 \pm 6,2$
Кількість саркомерів у КМЦ	$43,7 \pm 8,4$	$62,5 \pm 14,5^*$

Примітка: достовірно у порівнянні з контролем при $p \geq 0,05$

REFERENCES

1. Mohamed B.A., Schnelle M., Khadgeh S., Lbik D, Herwig M., Linke W.A., Hasenfuss G., Toischer K. Molecular and structural transition mechanisms in long term volume overload. *European Journal of Heart Failure* 2016; 18(4):362-71. DOI: 10.1002/ejhf.465. View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejhf.465>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26694078/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5064674/>
2. Gallo S., Vitacolonna A., Bonzano A., Comoglio P., Crepaldi T. ERK: a key player in the pathophysiology of cardiac hypertrophy. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(9): 2164. DOI:10.3390/ijms20092164
View at: Publisher site: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/9/2164>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31052420/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6539093/>
3. Saucerman J.J., Tan P.M., Buchholz K.S., McCulloch A.D., Omens J.H. Mechanical regulation of gene expression in cardiac myocytes and fibroblasts. *Nat. Rev. Cardiol.* 2019; 16(6):361-78. DOI:10.1038/s41569-019-0155-8
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/s41569-019-0155-8>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30683889/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6525041/>
4. Kivelä R., Hemanthakumar K.A., Vaparanta K., Robciuc M., Izumiya Y., Kidoya H., Takakura N., Peng X., Sawyer D. B., Elenius K., Walsh K., Alitalo K. Endothelial Cells Regulate Physiological Cardiomyocyte Growth via VEGFR2-Mediated Paracrine Signaling. *Circulation.* 2019; 139(22): 2570-84. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036099
View at: Publisher site: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036099>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30922063/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6553980/>
5. Yang H., Schmidt L.P., Wang Z., Yang X., Shao Y., Borg T.K., Markwald R., Runyan R., Gao B.Z. Dynamic myofibrillar remodeling in live cardiomyocytes under static stretch. *Sci. Rep.* 2016; 6: 20674. DOI:10.1038/srep20674
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/srep20674>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26861590/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4748238/>
6. Costabal F.S., Choy J.S., Sack K.L., Guccione J.M., Kassab G.S., Kuhl E. Multiscale characterization of heart failure. *Acta Biomater.* 2019; 86: 66-76. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.12.053
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706119300029?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30630123/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6369012/>
7. D’Ascenzi F., Anselmi F., Focardi M., Mondillo S. Atrial enlargement in the athlete’s heart: assessment of atrial function may help distinguish adaptive from pathologic remodeling. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2018; 31(2):148-57. DOI: 10.1016/j.echo.2017.11.009
View at: Publisher site: [https://www.onlinejase.com/article/S0894-7317\(17\)30803-9/fulltext](https://www.onlinejase.com/article/S0894-7317(17)30803-9/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29246514/>
8. Pastore M.C, Mandoli G.E., Docollari A., Bisleri G., Cavigli M.L., D’Ascenzi F., Focardi M., Cameli M. Left atrial fibrosis: an essential hallmark in chronic mitral regurgitation. *Romanian Journal of cardiology.* 2021; 31 (1): 36-45. DOI: 10.47803/rjc.2021.31.1.36
View at: Publisher site: <https://www.romanianjournalcardiology.ro/>
URL: https://www.romanianjournalcardiology.ro/wp-content/uploads/2021/03/RRC_art-6-1.pdf
9. Mohammed S.F., Hussain S., Mirzoyev S.A., Edwards W.D., Maleszewski J.J., Redfield M.M. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation.* 2015; 131(6):550-9. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.009625
View at: Publisher site: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.009625>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25552356/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4324362/>
10. Ramaekers J., Janssens J., Waumans L., Stessens L., Dupont M., Mullens W., Martens P. Indications and diagnostic yield of endomyocardial biopsies for unexplained cardiomyopathy, a single center experience. *Acta Cardiol.* 2020; 75 (2): 138-46. DOI:10.1080/00015385.2018.1561597.
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00015385.2018.1561597?journalCode=tacd20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30650043/>
11. Zakharova V.P., Rudenko K.V., Rudenko O.V., Levchishina O.V., Tretyak O.A. [The use of MSB method in Zerbino-Lukasevich modification for diagnostics of morphofunctional state of myocardium]. *Patologia.* 2010; 7(2): 105-6. [in Russian]
View at: NBUV: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=U-JRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&S21P03=FILA=&S21STR=patologia_2010_7_2_36

Article history
 Received: 02.05.2021
 Revision requested: 15.05.2021
 Revision received: 10.06.2021
 Accepted: 24.06.2021
 Published: 30.06.2021

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИОКАРДА ПРИ ЕГО ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ

¹Балабай А.А., ²Крикунов А.А., ²Семенов П.М., ²Руденко Е.В., ²Захарова В.П.¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина²Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии имени Н.Н. Амосова, Киев, Украина

alina.balabai@gmail.com

Актуальность. Адаптация камер сердца к перегрузке их объемом, нарастающая при диастолическом наполнении левого желудочка (ЛЖ) или систолической регургитации в левое предсердие (ЛП) при недостаточности митрального клапана (НдМК) приводит к ремоделированию миокарда данных камер. Продольная гипертрофия кардиомиоцитов (КМЦ), реализуемая за счет наращивания новых саркомеров на конце уже существующих миофибрилл, является механизмом адаптации на ранних этапах, но со временем переходит в дезадаптацию, что и приводит к сердечной недостаточности. Поврежденные при декомпенсации гипертрофированные КМЦ замещаются соединительной тканью вследствие избыточной активации фибробластов с отложением внеклеточного матрикса, что также является элементом ремоделирования миокарда. Прогрессирование сердечной недостаточности связано также с несоответствием между кровоснабжением и потребностью миокарда в кислороде, поскольку рост размеров КМЦ сопровождается разрежением интрамуральной сети микрососудов. Считается, что нарушение соотношения размеров сердца, ангиогенеза и сердечной функции являются основой перехода адаптивной компенсации сердца к декомпенсации с прогрессированием сердечной недостаточности.

Цель: изучить морфологические изменения миокарда ЛЖ и ЛП больных с НдМК.

Материалы и методы. Макроскопически состояние миокарда изучали на материале 14 вскрытий пациентов, умерших от недостаточности НдМК. Анамнез НдМК – от 3 мес. до 2,4±1,1 лет. В качестве контроля изучали сердца 3 умерших без кардиопатологий. Материалом для световой микроскопии служили кусочки миокарда из различных сегментов ЛЖ, а также со стенок ЛП, полученные при аутопсии. Были использованы морфологические (макроскопический, гистологический и электронномикроскопический), морфометрический и статистический методы исследования.

Результаты. При дилатации ЛЖ, связанной с хронической НдМК, удлинение каждого КМЦ обеспечивает увеличение площади стенок миокарда, и соответственно – размер полости соответствующей камеры сердца, что в определенной мере компенсирует увеличение диастолического объема крови в ЛЖ и систолического – в ЛП. Однако фактором, ограничивающим этот механизм компенсации, является дефицит микроциркуляторного русла миокарда, связанный с лимитированным ростом капилляров. Противоречие между потребностью миокарда в удлинении КМЦ и неспособностью капилляров обеспечить их кислородом приводит к срыву компенсации с нарастанием фиброзных изменений. Это является фактором, ограничивающим дальнейшее увеличение объема полости.

Выводы. Перегрузка миокарда объемом приводит к увеличению длины КМЦ в среднем с 57,3±9,1 мкм до 93,7±12,4 мкм. Увеличение длины КМЦ осуществляется за счет роста количества саркомеров в них с 43,7±8,4 до 62,5±14,5. Диаметр КМЦ при этом увеличивается не достоверно. Перегрузка полостей сердца объемом часто сопровождается десинхронизацией сокращения КМЦ, что приводит к нарушению целостности миоцитарного «рабочего синцития» и выраженному интерстиционному фиброзу.

Ключевые слова: перегрузка миокарда объемом, дилатация левого желудочка сердца, продольная гипертрофия кардиомиоцитов.

MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF THE MYOCARDIUM IN ITS DIASTOLIC OVERLOAD

¹Balabai A.A., ²Krikunov A.A., ²Semeniv P.M., ²Rudenko E.V., ²Zakharova V.P.¹Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine²National Amosov Institute of Cardiovascular Surgery, Kyiv, Ukraine

alina.balabai@gmail.com

Relevance. Adaptation of the heart chambers to their volume overload, which increases with diastolic filling of the left ventricle (LV) or systolic regurgitation in the left atrium (LA) in case of mitral valve insufficiency leads to remodeling of the myocardium of these chambers. Longitudinal hypertrophy of cardiomyocytes (CMCs), realized by building up new sarcomeres at the end of existing myofibrils, is an adaptation mechanism in the early stages, but eventually turns into maladjustment, which leads to heart failure. Hypertrophied CMCs, damaged during decompensation, are replaced by connective tissue due to excessive activation of fibroblasts with deposition of the extracellular matrix, which is also an element of the myocardial remodeling. The progression of heart failure is also associated with a mismatch between blood supply and myocardial oxygen demand, since an increase in the size of the CMCs is accompanied by a rarefaction of the intramural network of microvessels. It is believed that the violation of the ratio of the size of the heart, angiogenesis and cardiac function are the basis for the transition of adaptive compensation of the heart to decompensation with the progression of heart failure.

Objective: to study morphological changes in the myocardium of the LV and LA in patients with mitral valve insufficiency.

Materials and methods. Macroscopically, the condition of the myocardium was studied on the material of 14 autopsies of patients who died of NdMK insufficiency. History of NdMK – from 3 months. up to 2.4±1.1 years. As a control, the hearts of 3 deaths without

cardiopathology were studied. The material for light microscopy was pieces of myocardium from different segments of the left ventricle, as well as from the walls of the left ventricle, obtained during autopsy. Morphological (macroscopic, histological and electron microscopic), morphometric and statistical research methods were used.

Results. With LV dilatation associated with chronic mitral valve insufficiency, lengthening of each CMCs provides an increase in the area of the myocardial walls, and, accordingly, the size of the cavity of the corresponding chamber of the heart, which compensates to some extent for the increase in diastolic blood volume in the LV and systolic blood volume in the LA. However, the factor limiting this compensation mechanism is the deficiency of the myocardial microvasculature associated with limited capillary growth. The contradiction between the need for the myocardium to lengthen the CMCs and the inability of capillaries to provide them with oxygen leads to a breakdown in compensation with an increase in fibrotic changes. This is a factor limiting the further increase in the volume of the cavity.

Conclusions. Overloading of the myocardium with volume leads to an increase in the length of the CMCs, on average, from $57.3 \pm 9.1 \mu\text{m}$ to $93.7 \pm 12.4 \mu\text{m}$. The increase in the length of the CMCs is due to the increase in the number of sarcomeres from 43.7 ± 8.4 to 62.5 ± 14.5 . The diameter of the CMCs in this case does not increase reliably. Overloading of the heart cavities with volume is often accompanied by desynchronization of the CMCs contraction, which leads to disruption of the integrity of the myocytic «working syncytium» and pronounced interstitial fibrosis.

Key words: myocardial volume overload, left ventricular dilatation, longitudinal cardiomyocyte hypertrophy.

THE STATE OF PLATELET HEMOSTASIS IN PATIENTS WITH HYPERTENSIVE DISEASE COMBINED WITH NON-ALCOHOLIC FAT LIVER DISEASE

Bazhenova N.M. <https://orcid.org/0000-0002-5640-4317>

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

dr.bazhenova@gmail.com

Relevance. Platelet activation and platelet aggregation are central processes in the pathophysiology of coronary heart disease and thrombosis. The relationship between cardiovascular morbidity and mortality varies with the presence of other concomitant cardiovascular risk factors.

Objective. To determine the state of platelet hemostasis in patients with essential hypertension (HT), with concomitant non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

Materials and methods. 152 patients were examined: 72 men and 80 women. Three groups were identified: I - 46 patients with stage II HT without concomitant NAFLD, II - 54 patients with NAFLD without HT, group III - 52 patients with HT and concomitant NAFLD. A study of total platelet count, mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), platelet count (PCT) and spontaneous platelet aggregation was performed.

Results. The level of mean platelet volume (MPV) in both groups of patients with hepatic steatosis exceeded control values equally - by 6%, both in patients with NAFLD ($p < 0.001$) and in NAFLD with concomitant hypertension ($p < 0.01$). In patients of the NAFLD group and hypertension, the relative width of the platelet distribution by volume (PDW) had high values - 2% ($p < 0.05$) higher than in the control cohort, and 2.4% ($p < 0.05$) than in patients with isolated HT. An increase in the degree of spontaneous aggregation in patients of all surveyed groups compared to controls. So in patients with HT II stage. spontaneous aggregation increased 2.2 times ($p < 0.001$), while in both groups of patients with hepatic steatosis, the increase in spontaneous platelet activity was twice as high: in patients with NAFLD - 4.3 times ($p < 0.001$), in patients with HT II stage. and concomitant NAFLD - 4.1 times ($p < 0.001$).

Conclusion. NAFLD is accompanied by an increased in MPV, the size of which correlates with their functional activity. In patients with isolated NAFLD, a statistically significant increase in spontaneous platelet aggregation is also observed, which allows considering NAFLD as one of the risk factors for thrombophilic changes in the primary hemostasis.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease; mean platelet volume; platelet aggregation; hypertonic disease; obesity.

Relevance. In modern society, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the leading cause of liver disease. The global prevalence of NAFLD in the world is 25.2% [1]. Today NAFLD is recognized as a hepatic manifestation of metabolic syndrome [2]. Metabolic comorbidities associated with NAFLD include obesity 51.3%, type 2 diabetes mellitus 22.5%, hyperlipidemia 69.2%, metabolic syndrome 42.5% and hypertension 39.3%. In 2018, Oikonomou D. et. al. analyzed the relationship of NAFLD with hypertension (HT) independently of other components of the metabolic syndrome, such as obesity and diabetes. It was found that NAFLD is associated with newly detected HT, while elevated blood pressure is associated with the development of fatty liver disease and subsequent progression of fibrosis [3]. Insulin resistance and activation of the renin-angiotensin-aldosterone system may provide potential pathophysiological links between these diseases. Inhibitors of the renin-angiotensin-aldosterone system have been studied in NAFLD, their use has created a favorable profile, reducing insulin resistance and the progression of fibrosis [3]. The results of this study confirm the existence of cardiometabolic links between NAFLD and HT.

Therefore, NAFLD should be considered not only as a liver disease, but also as an early mediator of cardiovascular disease, type 2 diabetes, obesity and dyslipidemia.

NAFLD is widespread in the general population and is associated with an increase in cardiovascular morbidity and mortality [2]. The main mechanisms and pathogenesis of the growth of cardiovascular morbidity and mortality in NAFLD are not yet fully understood. Therefore, we draw our attention to the study of the presence of thrombogenic conditions in the blood in combination with NAFLD with one of the most common diseases of the cardiovascular system - HT.

The primary link responsible for thrombus formation is platelet hemostasis. The role of platelets in the atherosclerotic process, and later in the pathophysiological mechanisms of cardiovascular disease, is not limited to the normal physiological role of platelets in the maintenance and implementation of hemostasis, they also simulate inflammatory responses and immune response. This interaction contributes to the localized inflammatory response and the progression of the atherosclerotic process [4].

Due to the fact that the production of peripheral platelets is regulated mainly by thrombopoietin, which is mainly synthesized in the liver, so the level of platelets in liver disease falls under meticulous study. According to the results of recent studies, people with NAFLD have an increased risk of decreased platelet count compared

to those who do not have NAFLD [5, 6]. However, the question of the nature of hemostatic complications in these patients remains open. Therefore, we analyzed the effect of NAFLD on the state of platelet hemostasis in patients with isolated NAFLD and the combined course of NAFLD with HT II.

The objective is determination of the state of platelet hemostasis in patients with hypertension combined with non-alcoholic fatty liver disease.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted on the clinical basis of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine №1 National Medical University named after OO Bogomolets of the Kyiv Clinical Hospital on railway transport №2 Branch "Health Center" of "Ukrainian Railways" in the period 2015-2018. 152 patients were examined: 72 men and 80 women. Patients were divided into groups: Group I - patients with stage II HT without signs of liver damage (46 people, age of the examined 58.0 [51.0; 63.0] years); Group II - patients with NAFLD without HT (54 people, age 54.0 [43.0; 58.0] years); Group III - patients with stage II HT with NAFLD (52 people, age 57.5 [48.0; 64.5] years). The control group consisted of 15 practically healthy individuals comparable in age and sex (age 49.0 [42.0; 55.0] years), who underwent a preventive examination.

The study was conducted in accordance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) and approved by the Commission on Bioethics of the Bogomolets National Medical University, expert opinion №97 dated 23.06.2016. All patients included in the study gave written informed consent to participate in the study.

All patients underwent general clinical studies. The laboratory study included determination of total blood counts, including total platelet count, mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW) and platelet count (PCT), using an automatic hematology analyzer Mindray BC 2800 (Mindray, China), with counting technology based on the conductometric method, in which cells pass through an aperture of small size.

To achieve this goal, a study of spontaneous platelet aggregation was performed. Platelet aggregation activity was studied using a 230-LA aggregation laser analyzer (Biola Research and Production Company, Russia). The critical level of significance in testing statistical hypotheses was assumed to be 0.05. Non-parametric statistical methods were used for statistical analysis: U-Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis H-test, Spearman correlation coefficient, odds ratio (OR), as small sample sizes were used, and values in groups were not subject to the law of normal distribution.

RESULTS AND DISCUSSION

We studied the indicators that characterize platelets: PDW - the calculated width of the curve of platelet distribution by volume or the relative width of platelet distribution by volume; this is an indicator of platelet heterogeneity; PCT - plateletcrit, an indicator that characterizes the percentage of platelet mass in the blood volume; MPV - mean platelet volume, which is determined based on the histogram of platelet distribution.

MPV analysis showed a significant increase in this indicator only in groups with NAFLD, while in patients with isolated course of HT the difference was not significant. The level of MPV in both groups of patients with hepatic steatosis exceeded the control values to the same extent - by 6%, both in patients with NAFLD ($p < 0.001$) and NAFLD combined with HT ($p < 0.01$). Intergroup comparisons did not reveal significant differences between the examined groups of patients (Table 1).

Table 1

Platelet status in the examined groups of patients (Me [25%; 75%])

Group	Platelets, $10^9/L$	MPV, fL	PDW, %	PCT, %
HT (I) (n=46)	253 [214; 288]	9.7 [9.2; 10.1]	14.7 [14.5; 14.8]	0.248 [0.227; 0.282]
NAFLD (II) (n=54)	235 [207.5; 280]	9.9*** [9.7; 10.3]	14.8 [14.6; 14.9]	0.241 0.216; 0.276]
NAFLD+HT (III) (n=52)	224 [211; 258.5]	9.9** [9.3; 10.3]	14.9 [14.6; 15.1]	0.236 0.216; 0.260]
Control	242.5 [206; 271]	9.4 [9.1; 9.7]	14.6 [14.4; 14.8]	0.247 [0.194; 0.277]
p_{1-2}	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
p_{1-3}	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p < 0.05$	$p > 0.05$
p_{2-3}	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

Notes: p_{1-2} - the probability of the difference between patients of group I and group II; p_{1-3} - the probability of the difference between patients of group I and group III; p_{2-3} - the probability of the difference between patients of group II and group III. The degree of probability of indicators relative to the surveyed control group: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; MPV - mean platelet volume; PDW - the relative width of the distribution of platelets by volume; PCT - plateletcrit

Comparative analysis of the relative width of the distribution of platelets by volume (PDW) showed the highest values in the combined course of NAFLD and HT. In patients from this group PDW was 2% ($p < 0.05$) higher than in the control cohort, and 2.4% ($p < 0.05$) than in patients with isolated HT.

The level of plateletcrit (PCT), as well as the level of platelets in any of the examined groups did not differ

significantly compared with the control cohort and in the intergroup analysis. Given that the study included patients with NAFLD only in the stage of hepatic steatosis, and did not include patients with steatohepatitis, fibrosis and cirrhosis of the liver, so the difference in PCT and platelet counts did not differ significantly.

It should be noted that we separately performed the distribution of patients by MPV values that exceeded the average of healthy individuals. This allowed us to detect a more pronounced and statistically significant increase in the frequency of high degrees of spontaneous and induced aggregation in patients with NAFLD and in combination with NAFLD with HT (Fig. 1).

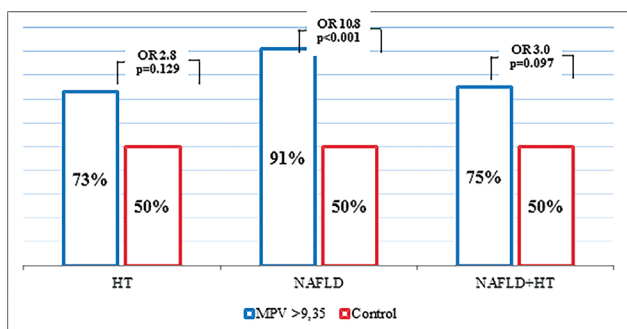


Fig. 1. The chance to find an increased mean platelet volume among the examined groups of patients

The results of the analysis proved that NAFLD was associated with a higher average platelet volume - MPV greater than 9.35 fL, the odds ratio was 10.75 (2.483-46.539) ($p<0,001$) under conditions of very high sensitivity 91.5%), and the average values of specificity ($Sp=50\%$) of this method in relation to the control. The combined course of NAFLD with HT of the II degree was also associated with the increased average volume of thrombocytes. - the odds ratio reached 3.0 (0.803-11.211) ($p=0.097$) with high specificity ($Sp=75\%$) and average values of the sensitivity of the method ($Se=50\%$) to the control. In patients with HT, the frequency of large values of MPV, although higher than the control cohort, but did not reach a statistically significant difference ($OR=2.75$ (0.732-10.333), $p=0.129$) relative to control. Thus, the additional distribution of the incidence of high MPV values among the examined groups of patients confirmed the relationship between NAFLD and the increase in mean platelet volume.

Therefore, after analyzing the obtained data, we noted that the level of MPV was significantly higher among patients with NAFLD, regardless of the presence or absence of concomitant stage II HT.

The next step was to study the functional activity of platelets - spontaneous aggregation.

Platelet aggregation is the primary link in the complex mechanism of thrombus formation. The study of spontaneous aggregation reflects the thrombophilic activity of the blood at the initial stage of coagulation, the

tendency to spontaneous thrombosis, and, accordingly, the risk of thrombogenic complications. We determined the spontaneous platelet aggregation in groups of patients with HT, NAFLD and combined pathology. After analyzing the data obtained, a significant increase in the degree of spontaneous aggregation in patients of all examined groups compared with the control. So in patients with HT spontaneous aggregation increased 2.2 times ($p<0.001$), while in both groups of patients with hepatic steatosis, the increase in spontaneous platelet activity was twice as high: in patients with NAFLD - 4.3 times ($p<0.001$), in patients with HT and concomitant NAFLD - 4.1 times ($p<0.001$) (Fig. 2).

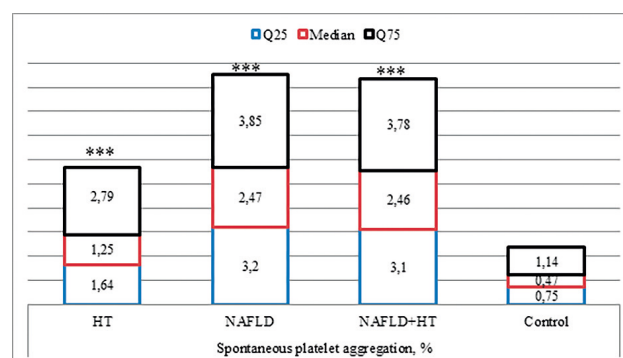


Fig. 2. Spontaneous platelet aggregation in different groups of patients in comparison with the control group by the Mana-Whitney method

Note: The degree of probability to the control group: *** - $p<0,001$

An intergroup comparison of spontaneous platelet aggregation was also performed. The comparison with a group of patients with HT showed that the degree of spontaneous aggregation was higher among patients in both groups with NAFLD: both in combination with HT, and in isolated NAFLD - 1.9 times ($p<0.001$) compared with the group of patients with HT. Probable difference between the values of spontaneous aggregation between NAFLD and NAFLD groups with HT not installed. The rate of spontaneous aggregation changed only in the group of combined course of NAFLD with HT and was 2.3 times ($p<0.001$) higher than in healthy patients, and to the same extent - 1.7 times ($p<0.001$) higher than in patients with isolated course of HT, and independent NAFLD. The time of spontaneous platelet aggregation increased in all groups of patients equally - three times ($p<0.001$), compared with control values.

After analyzing the relationships between the values of mean platelet volume and the level of spontaneous aggregation, we showed the existence of a weak positive correlation between the level of MPV and the degree of spontaneous aggregation ($r=0.246$; $p<0.05$) (Fig. 3). Such a connection is probably due to the content of a larger number of granules in the platelets of a larger volume. with endothelial cells and leukocytes [8].

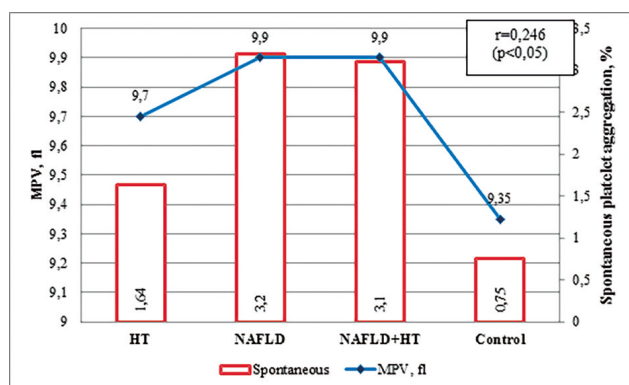


Fig. 3. Correlation spontaneous platelet aggregation by value of mean platelet volume in four groups

Note: r – the Spearman correlation.

Having studied the data of spontaneous platelet aggregation, we found that in patients with HT there is an increase in the functional activity of platelets, which corresponds to the literature data [9], the severity of aggregation increases significantly with the addition of NAFLD. In patients with isolated NAFLD, a statistically significant increase in spontaneous platelet aggregation is also observed, which allows us to consider NAFLD as one of the risk factors for thrombophilic changes in the primary link of hemostasis. Also, we noted that the level of MPV was significantly higher among patients with NAFLD, regardless of the presence or absence of concomitant stage II HT. Given that in the general population, elevated levels of MPV (but not platelets) are associated with ischemic diseases, including acute myocardial infarction, as well as with an increased incidence of restenosis after myocardial infarction. The risk of stroke increases with increasing MPV, and the likelihood of greater brain damage increases. Increased MPV also has a strong and independent association with venous thromboembolic disease, even in the absence of trauma, surgery, immobilization [7, 10]. Therefore, the growth of this indicator among patients with NAFLD should be considered as an additional risk factor for thrombotic complications.

Thus, summarizing the data obtained, we can state that we found an increase in the degree of spontaneous platelet aggregation in patients with HT indicates a higher risk of thrombotic events compared to healthy individuals. At the same time, the presence of both independent nosological form and combination with HT in patients with NAFLD increases the activity of platelets almost twice compared to the isolated course of HT, which indicates a more significant shift of blood towards thrombophilic changes.

CONCLUSIONS

In patients with HT there is an increase in platelet aggregation activity by 2.2 times ($p < 0.001$), the severity

of which progresses significantly with the addition of NAFLD - an increase of 4.1 times ($p < 0.001$). In patients with isolated nonalcoholic fatty liver disease there is an increase in spontaneous platelet aggregation by 4.1 times ($p < 0.001$), which allows us to consider NAFLD as one of the risk factors for thrombophilic changes in the primary link of hemostasis. NAFLD is accompanied by an increase in mean platelet volume (MPV) of 6% ($p < 0.001$), the size of which correlates with their functional activity ($r = 0.246$ ($p < 0.05$)). Therefore, the increase in MPV in patients with NAFLD and in combination with NAFLD with HT is an additional factor in increasing the prothrombotic activity of the blood.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Funding. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors

REFERENCES

1. Younossi Z.M., Koenig A.B., Abdelati D., Fazel Y., Henry L, Wymer M. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease-meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84. DOI: 10.1002/hep.28431
View at: Publisher site: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.28431>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26707365/>
2. Fotbolcu H., Zorlu E. Nonalcoholic fatty liver disease as a multi-systemic disease. *World journal of gastroenterology*. 2016;22(16):4079-90. DOI: 10.3748/wjg.v22.i16.4079
View at: Publisher site: <https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v22/i16/4079.htm>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27122660/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4837427/>
3. Oikonomou D., Georgiopoulos G., Katsi V., Kourek C., Tsioufis C., Alexopoulou A., Koutli E., Tousoulis D. Non-alcoholic fatty liver disease and hypertension. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2018;30(9):979-85. DOI: 10.1097/MEG.0000000000001191
View at: Publisher site: https://journals.lww.com/eurojgh/Abstract/2018/09000/Non_alcoholic_fatty_liver_disease_and.1.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30048367/>
4. Papapanagiotou A., Daskalakis G., Siasos G., Gargaliionis A., Papavassiliou A.G. The role of platelets in cardiovascular disease: molecular mechanisms. *Current pharmaceutical design*. 2016;22(29):4493-505. DOI: 10.2174/1381612822666160607064118
View at: Publisher site: <https://www.eurekaselect.com/143022/article>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27281334/>
5. Panke C.L., Tovo C.V., Villela-Nogueira C.A. et al. Evaluation of thrombocytopenia in patients with non-al-

- coholic fatty liver disease without cirrhosis. *Annals of Hepatology*. 2020;19(1):88-91. DOI: 10.1016/j.aohep.2019.05.011.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665268119322306?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31575467/>
6. Liu F, Zhou H., Cao L. et al. Risk of reduced platelet counts in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a prospective cohort study. *Lipids in Health and Disease*. 2018; 17(1):221. DOI: 10.1186/s12944-018-0865-7
View at: Publisher site: <https://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12944-018-0865-7>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30227874/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6145189/>
7. Abeles R.D., Mullish B.H., Forlano R. et al. Derivation and validation of a cardiovascular risk score for prediction of major acute cardiovascular events in non-alcoholic fatty liver disease; the importance of an elevated mean platelet volume. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2019;49(8):1077-85. DOI: 10.1111/apt.15192
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.15192>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30836450/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6519040/>
8. Ranucci M., Aloisio T., Di Dedda U., La Rovere M.T., De Arroyabe B.M.L., Baryshnikova E. Platelet reactivity in overweight and obese patients undergoing cardiac surgery. *Platelets*. 2019;30(5):608-14. DOI: 10.1080/09537104.2018.1492108
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09537104.2018.1492108?journalCode=iplt20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29985729/>
9. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. [Aggregation properties of blood cells and vascular control over them in patients with arterial hypertension and dyslipidemia]. *Russian journal of Cardiology*. 2015;4(120):18-22. [in Russian] DOI: 10.15829/1560-4071-2015-4-18-22
View at: Publisher site: <https://russjcardiol.elpub.ru/jour/article/view/277/0>
URL: <https://russjcardiol.elpub.ru/jour/article/viewFile/277/271>
Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/agregatsionno-dezagregatsionnye-yavleniya-v-krovi-pri-arterialnoy-gipertonii-s-dislipidemiy>
10. Zaccardi F., Rocca B., Pitocco D., Tanese L., Rizzi A., Ghirlanda G. Platelet mean volume, distribution width, and count in type 2 diabetes, impaired fasting glucose, and metabolic syndrome: a meta-analysis. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2015;31(4):402-10. DOI: 10.1002/dmrr.2625
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dmrr.2625>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25421610/>

Article history
Received: 17.05.2021
Revision requested: 03.06.2021
Revision received: 23.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

СТАН ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ У ПОЄДНАННІ З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

Баженова Н.М.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

dr.bazhenova@gmail.com

Актуальність. Активація тромбоцитів і їх агрегації є центральними процесами в патофізіології ішемічної хвороби серця. Взаємозв'язок серцево-судинної захворюваності та смертності змінюється в залежності від наявності інших супутніх серцево-судинних факторів ризику.

Мета: визначити стан тромбоцитарного гемостазу у пацієнтів з гіпертонічною хворобою (ГХ), поєднаною з неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП).

Матеріали та методи. Обстежено 152 пацієнта: 72 чоловіка і 80 жінок. Виділено три групи: I – 46 хворих ГХ II стадії, II – 54 пацієнти з НАЖХП без ГХ, III група – 52 пацієнта з ГХ II стадії з супутньою НАЖХП. Проводилось дослідження загальної кількості тромбоцитів, середнього об'єму тромбоцитів (MPV), ширини розподілу тромбоцитів (PDW) та тромбоцитів (PCT) і спонтанної агрегаційної здатності тромбоцитів.

Результати. Рівень MPV в обох групах пацієнтів зі стеатозом печінки перевищував контрольні значення однаковою мірою – на 6 %, як у хворих на НАЖХП ($p < 0,001$), так і на НАЖХП, поєднану з ГХ II ст. ($p < 0,01$). У пацієнтів групи НАЖХП та ГХ II ст. PDW мала найвищі значення – на 2% ($p < 0,05$) вище, ніж в контрольній когорті, та на 2,4 % ($p < 0,05$), ніж у пацієнтів з ізольованою ГХ II ст. Спостерігали збільшення ступеня спонтанної агрегації у пацієнтів всіх обстежених груп у порівнянні з контролем. Так, у пацієнтів з ГХ II ст. спонтанна агрегація зростала в 2,2 рази ($p < 0,001$), в той час в обох групах хворих, які страждали на стеатоз печінки, підвищення спонтанної активності тромбоцитів було вдвічі вищим: у пацієнтів з НАЖХП – в 4,3 рази ($p < 0,001$), у пацієнтів з ГХ II ст. і супутньою НАЖХП – в 4,1 разів ($p < 0,001$).

Висновки. НАЖХП супроводжується зростанням середнього об'єму тромбоцитів, розмір яких корелює з їх функціональною активністю. У пацієнтів з ізольованою НАЖХП також спостерігається статистично значуще посилення спонтанної агрегації тромбоцитів, що дозволяє розглядати НАЖХП як один з факторів ризику тромбофілічних змін первинної ланки гемостазу.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, середній об'єм тромбоцитів, агрегація тромбоцитів, гіпертонічна хвороба, ожиріння.

СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ В СОЧЕТАНИИ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Баженова Н. М.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

dr.bazhenova@gmail.com

Актуальность. Активация тромбоцитов и их агрегации являются центральными процессами в патофизиологии ишемической болезни сердца. Взаимосвязь сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности меняется в зависимости от наличия других сопутствующих сердечно-сосудистых факторов риска.

Цель: определить состояние тромбоцитарного гемостаза у пациентов с гипертонической болезнью (ГБ), с сопутствующей неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП).

Материалы и методы. Обследовано 152 пациента: 72 мужчины и 80 женщин. Выделены три группы: I – 46 больных ГБ II стадии, II – 54 пациента с НАЖБП без ГБ, III группа – 52 пациента с ГБ II стадии с сопутствующей НАЖБП. Проводилось исследование общего количества тромбоцитов, среднего объема тромбоцитов (MPV), ширины распределения тромбоцитов (PDW), тромбокрит (PCT) и спонтанной агрегационной способности тромбоцитов.

Результаты. Уровень MPV в обеих группах пациентов со стеатозом печени превышал контрольные значения в равной степени – на 6 %, как у больных НАЖБП ($p < 0,001$), так и при НАЖБП с сопутствующей ГБ II ст. ($p < 0,01$). У пациентов группы НАЖБП и ГБ II ст. PDW имела высокие значения – на 2 % ($p < 0,05$) выше, чем в контрольной когорте, и на 2,4 % ($p < 0,05$), чем у пациентов с изолированной ГБ II ст. Наблюдали увеличение степени спонтанной агрегации у пациентов всех обследованных групп по сравнению с контролем. Так, у пациентов с ГБ II ст. спонтанная агрегация возрастала в 2,2 раза ($p < 0,001$), в то время в обеих группах больных, страдающих стеатозом печени, повышение спонтанной активности тромбоцитов было вдвое выше: у пациентов с НАЖБП – в 4,3 раза ($p < 0,001$), у пациентов с ГБ II ст. и сопутствующей НАЖБП – в 4,1 раза ($p < 0,001$).

Выводы. НАЖБП сопровождается ростом среднего объема тромбоцитов, размер которых коррелирует с их функциональной активностью. У пациентов с изолированной НАЖБП также наблюдается статистически значимое усиление спонтанной агрегации тромбоцитов, что позволяет рассматривать НАЖБП как один из факторов риска тромбофилических изменений первичного звена гемостаза.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, средний объем тромбоцитов, агрегация тромбоцитов, гипертоническая болезнь, ожирение.

ЗВ'ЯЗОК АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ З КАЛЕНДАРНИМ ТА БІОЛОГІЧНИМ ВІКОМ У ПАЦІЄНТІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Радченко А. О. <https://orcid.org/0000-0002-9687-8218>
Колеснікова О. В. <https://orcid.org/0000-0001-5606-6621>

Державна установа «Національний інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України», Харків, Україна

anastasha.radchenko@gmail.com

Актуальність. Актуальність дослідження обумовлена збільшенням поширеності артеріальної гіпертензії (АГ) з віком, а також наявністю спільного механізму розвитку з процесами старіння, а саме порушення антиоксидантного захисту. Враховуючи зміни в антиоксидантному стані з віком, вивчення їх зв'язку з біологічним віком (БВ) може бути корисним у цій категорії пацієнтів.

Ціль: вивчити зміни антиоксидантного статусу у пацієнтів з АГ різної вікової категорії та взаємозв'язок з календарним віком (КВ) та БВ, розрахованим за двома амбулаторними методами.

Матеріали та методи. В дослідження було включено 96 пацієнтів середнім віком $50,8 \pm 14,3$ роки (53,1% жінок), які були поділені на 2 групи: основна ($n=71$) – пацієнти з АГ 1-2 ступеня 1-2 стадії з низьким і помірним кардіоваскулярним ризиком, контрольна ($n=25$) – здорові пацієнти рандомізовані за віком і статтю. Пацієнти основної групи були поділені на підгрупи залежно від віку: 25-44 роки ($n=21$), 45-59 років ($n=25$) і старше 60 років ($n=25$). Всім пацієнтам визначали маркери антиоксидантного захисту: загальну антиоксидантну здатність (ЗАЗ) та тотальну антиоксидантну активність (ТАА), а також розраховували БВ за методом Горелкіна О. Г. і Пінхасова Б. Б. (БВ1) та за методом Войтенко В. П. (БВ2).

Результати. Пацієнти основної групи мали вищий БВ1 ($p=0,024$), БВ2 ($p=0,004$), більшу вагу ($p=0,010$), індекс маси тіла ($p=0,008$), об'єм талії ($p=0,003$). Також у пацієнтів з АГ, порівнюючи з контролем, спостерігалися тенденції до збільшення ЗАЗ та зменшення ТАА, хоча відмінності не були значущі. Була виявлена кореляція між КВ та ЗАЗ ($r=0,422$; $p=0,032$) в групі контролю, а в основній групі спостерігався зв'язок між КВ та ТАА ($r=-0,357$; $p=0,003$), сила якого збільшувалася у пацієнтів молодого віку ($r=-0,412$; $p=0,037$). При порівнянні рівнів маркерів антиоксидантного стану у пацієнтів з АГ залежно від КВ та БВ не було виявлено достовірної різниці у рівнях ЗАЗ, тоді як рівні ТАА були найнижчими в групі пацієнтів 25-44 років ($p<0,05$). При розподілі пацієнтів залежно від БВ зниження ТАА у пацієнтів старше 60 років, в порівнянні з контролем, було ще більш помітним.

Висновки. Було продемонстровано зв'язок КВ з рівнем ЗАЗ в контрольній групі та ТАА в основній. Зв'язок цих показників з БВ спостерігався тільки у пацієнтів з АГ, що може свідчити про ефективність розрахунку БВ за методами Горелкіна О. Г., Пінхасова Б. Б. та Войтенко В. П. з метою оцінки темпів старіння у пацієнтів з АГ. У пацієнтів молодого та похилого віку визначення рівнів ТАА може мати більшу діагностичну користь, ніж визначення ЗАЗ. Характер змін ТАА у пацієнтів з АГ середньої вікової категорії, відмінний від пацієнтів молодого та похилого віку, потребує подальшого вивчення з урахуванням інших можливих чинників.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, загальна антиоксидантна здатність, тотальна антиоксидантна активність, біологічний вік.

Актуальність. З розвитком медицини та підвищенням якості життя поширеність артеріальної гіпертензії (АГ) швидко збільшується разом з ростом середньої тривалості життя людини [1]. Разом з тим, з віком росте кількість метаболічно-асоційованих патологічних станів, наприклад, цукрового діабету (ЦД), інсулінорезистентності, ожиріння, метаболічного синдрому, які сприяють прогресуванню більшості серцево-судинних захворювань, в тому числі і АГ [2]. Тому важливим є розуміння механізму розвитку метаболічних порушень у пацієнтів з АГ. Наявні дані сучасної літератури свідчать про те, що вагомий внесок в розвиток кардіометаболічних ускладнень, включаючи ожиріння, ЦД 2 типу, АГ, мають порушення процесів оксидативного стресу. Якщо виробництво окисників (наприклад, активних форм кисню) перевищує антиоксидантні захисні механізми організму, виникає окисно-відновний дисбаланс [3]. Наслідком такого дисбалансу є поява ендотеліальної дисфункції, окислювальне пошкодження ліпідів, білків та дезоксирибонуклеїнових кислот в ендотеліальних клітинах судин, подальше запалення, атеросклероз та збільшення щільності артеріальної стінки, які є відомими та ефективними предикторами серцево-судинних порушень [4].

Окисно-відновний дисбаланс також взаємопов'язаний із темпами старіння, що ще більше сприяє судинній дисфункції і прогресуванню серцево-судинних ускладнень [5]. Зміни окисно-відновних процесів з віком при різних кардіометаболічних патологіях широко представлені в сучасних дослідженнях, проте темпи старіння переважно оцінювались на основі календарного віку (КВ) пацієнтів, тоді як він часто не відображає увесь вплив наявних індивідуальних функціонально-органічних змін організму [6]. Тому з метою більш ефективної оцінки темпів старіння як в наукових дослідженнях, так і в практичній медицині часто розраховують біологічний вік (БВ). Хоча мето-

дослідженням, так і в практичній медицині часто розраховують біологічний вік (БВ). Хоча мето-

дів для його оцінки існує багато, досі не визначено найбільш оптимального, який би був пов'язаний з основними механізмами старіння та був би легкий у використанні при регулярному скринінгу пацієнтів [7].

Ціль: вивчити зміни антиоксидантного статусу у пацієнтів з артеріальною гіпертензією різної вікової категорії та взаємозв'язок з календарним віком та біологічним віком, розрахованим за двома амбулаторними методами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідження були включені 96 пацієнтів середнім віком $50,8 \pm 14,3$ років, серед яких жінки склали 53,1 % (n=51), а чоловіки 46,9 % (n=45), які проходили амбулаторне та стаціонарне лікування в ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України» в Україні з 2019 по 2020 роки. Всі досліджувані підписали інформовану згоду і пройшли відповідну співбесіду. Протокол дослідження був затверджений на засіданні Комісії з етики ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України». Методи дослідження, які були використані в цій роботі, відповідають принципам Гельсінської декларації про етичні принципи медичних досліджень та її перегляду (2008 р.), Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (2007 р.) та рекомендаціям Комітету з біоетики при Президії Національної академії медичних наук України (2002). Всі пацієнти були розділені на 2 групи: контрольна – здорові добровольці (n=25), та основна, в яку були включені пацієнти з АГ 1-2 ступеня 1-2 стадії з низьким і помірним КВР (n=71). Діагноз АГ виставляли на основі Настанови Європейського товариства кардіологів (ESC/ESH) 2018 р. з лікування АГ. Пацієнти основної групи для більш детального вивчення особливостей старіння залежно від віку були поділені на підгрупи залежно від віку: пацієнти віком 25-44 роки (n=21), 45-59 років (n=25) і пацієнти віком 60 років і старше (n=25).

Критеріями виключення були: наявність гострих захворювань або загострення хронічних запальних захворювань на початку дослідження; цереброваскулярних захворювань; ряду захворювань серця (ішемічної хвороби серця в анамнезі, інфаркту міокарда в анамнезі, коронарної ревазуляризації, хронічної

серцевої недостатності ІБ і ІІІ стадій), вираженої ниркової та печінкової недостатності, онкологічного захворювання; ревматичних захворювань; алергічних, вірусних та аутоімунних захворювань; вагітність; небажання пацієнта брати участь в дослідженні.

Всім хворим було проведено комплексне клінічне обстеження, а також визначення антропометричних показників: зріст, вага, об'єм талії (ОТ) і стегон (ОС), індекс маси тіла (ІМТ). Механізми антиоксидантного захисту оцінювали на основі двох параметрів, а саме: загальної антиоксидантної здатності (ЗАЗ) та тотальної антиоксидантної активності (ТАА). ЗАЗ в сироватці крові визначали колориметричним методом за допомогою набору реактивів «Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit (FRAP method)» (Cat. No E-BC-K225) виробництва Elabscience (КНР). ТАА (мкМоль тролокс-еквівалент) визначали колориметричним методом за реакцією з персульфатом амонію з використанням тетраметилбензидину у якості хромогенного субстрату. Усім пацієнтам також визначили БВ за методом Горелкіна О. Г. і Пінхасова Б. Б та за методом Войтенко В. П. [8, 9].

Статистична обробка результатів була виконана за допомогою пакета даних IBM SPSS Statistics 19. Перевірку нульової гіпотези про відсутність різниці між групами проводили із застосуванням U-критерію Манна-Уїтні. Різницю між групами вважали статистично значущою при $p < 0,05$. Результати представлені у вигляді медіани, нижнього і верхнього кватилей – Ме (Q1; Q3). Кореляційний аналіз був проведений з використанням методу Спірмена.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Достовірних відмінностей за КВ між контрольною та основною групами виявлено не було. Оцінка антиоксидантного статусу виявила у пацієнтів основної групи, порівняно з контролем, вищі значення ЗАЗ (1,077 [0,977;1,262] vs 0,988 [0,847;1,237]) та нижчу ТАА (557,930 [440,551;660,789] vs 536,700 [422,591;624,935]), хоча результати не були достовірні ($p=0,131$ vs $p=0,755$).

Антропометричні дані пацієнтів обох груп, які були використані для розрахунку БВ за методом Горелкіна О. Г. і Пінхасова Б. Б (БВ1) та частково для розрахунку БВ за методом Войтенко В. П. (БВ2), представлені у таблиці 1. БВ пацієнтів основної

Таблиця 1

Антропометричні дані пацієнтів контрольної та основної групи

Параметри	Контрольна група	Основна група	P
Вага, кг	70,0 [62,0;81,3]	79,5 [73,3;91,0]	0,010
ІМТ, кг/м ²	25,8 [22,4;27,4]	28,1 [25,8;30,2]	0,008
ОТ, см	79,5 [75,5;88,3]	93,0 [82,0;101,4]	0,003
ОС, см	99,0 [95,8;106,1]	103,0 [98,6;108,0]	0,233

групи був достовірно вищим за обома методами, порівняно з контролем: БВ1 ($p=0,024$) склав 47,9 [42,9;56,7] років в основній групі та 35,8 [27,6;49,5] років в контрольній, БВ2 ($p=0,004$) – 47,8 [39,5;53,2] та 36,2 [31,8;38,7] років, відповідно, що свідчить на користь використання обох методів розрахунку БВ для скринінгу темпів старіння у пацієнтів з АГ.

Вища дієтична ЗАЗ, відповідно до результатів мета-анлізу Farhangi M.A. et al. (2020), була пов'язана зі зменшенням поширеності центрального ожиріння, зниженням ОТ [10]. Проте Petelin A. et al. (2017), порівнюючи пацієнтів віком 25-49 років з нормальною та надлишковою масою тіла, виявили, що під впливом надмірної ваги та ожиріння на ранніх стадіях можуть активуватися адаптаційні механізми захисту проти оксидативного стресу, про що свідчить підвищення рівня ЗАЗ у таких пацієнтів [11]. Пацієнти основної групи в нашому дослідженні мають хоча і початкові, проте достовірно гірші показники антропометричних вимірювань, порівнюючи з контролем, що може обумовлювати тенденцію до збільшення ЗАЗ у цих пацієнтів. Результати систематичного огляду Mozaffari H. et al. (2018) підкреслили наявність достовірного негативного зв'язку між дієтичною ТАА та артеріальним тиском, об'ємом талії, який може пояснити виявлене в нашому дослідженні зменшення ТАА у пацієнтів основної групи [12]. В іншому дослідженні було показано зниження активності антиоксидантних ферментів у пацієнтів похилого віку з АГ порівняно зі здоровими пацієнтами контрольної групи того ж віку, а у великій перспективній когорті ($n=98,995$) ризик розвитку АГ у жінок мав непрямий зв'язок з дієтичною ТАА, що додатково свідчить на користь зниження ТАА у пацієнтів з АГ [13, 14]. Звертає увагу, що у пацієнтів в нашому дослідженні спостерігалися протилежні зміни у рівнях ЗАЗ та ТАА, хоча обидва показники є маркерами антиоксидантного захисту. Імовірно, це пов'язано з більшою чутливістю ТАА до ранніх змін у оксидативному стані, тоді як рівні ЗАЗ все ще компенсаторно підвищені.

Під час оцінки зв'язку між віком та параметрами антиоксидантного захисту в контрольній групі зв'язок спостерігався тільки між КВ та ЗАЗ ($r=0,422$, $p=0,032$). В основній групі не спостерігалася жодної кореляції між ЗАЗ та віком, проте у пацієнтів цієї групи було виявлено зниження ТАА з віком, і цей зв'язок був більш помітним у пацієнтів молодого віку (табл. 2). Достовірно вища ЗАЗ спостерігалася у пацієнтів основної групи з прискореним старінням, порівняно з нормальними/уповільненими темпами старіння, відповідно до методу Горелкіна (1,230 [1,053; 1,364] vs 0,999 [0,448; 1,079], $p=0,008$); достовірних відмінностей відповідно до методу Войтенко В. П. виявлено не було. Значущої різниці між рівнем ТАА з різними темпами старіння за будь-яким з двох методів не спостерігалася. Імовірно, відбувається активація

механізмів антиоксидантного захисту та збільшення ЗАЗ у пацієнтів основної групи внаслідок погіршення антропометричних даних, які лежать в основі розрахунку БВ1.

Таблиця 2

Зв'язок між рівнем ТАА та показниками старіння у пацієнтів основної групи

Оцінка віку	Основна група	P
Серед усіх пацієнтів		
КВ	-0,357	0,003
БВ1	-0,277	0,023
Серед пацієнтів молодого віку		
КВ	-0,412	0,037
БВ2	-0,453	0,023

При дослідженні змін індикаторів антиоксидантного захисту у пацієнтів основної групи залежно від віку (КВ та БВ) не було виявлено достовірної різниці між результатами ЗАЗ у різних підгрупах, тоді як ТАА була вищою у пацієнтів з КВ 25-44 років порівняно з пацієнтами зі старших вікових підгруп. Звертає на себе увагу той факт, що відповідно до БВ за двома методами ТАА був найвищим у пацієнтів середнього віку та найнижчим у пацієнтів похилого віку (рис. 1). Можна припустити, що у пацієнтів середнього віку за БВ накопичується ряд порушень, які стають причиною активації захисних механізмів, що проявляється у збільшенні ТАА. В похилому віці, імовірно, у пацієнтів виснажуються компенсаторні механізми і антиоксидантний захист значно знижується, порівняно з пацієнтами молодого та середнього БВ.

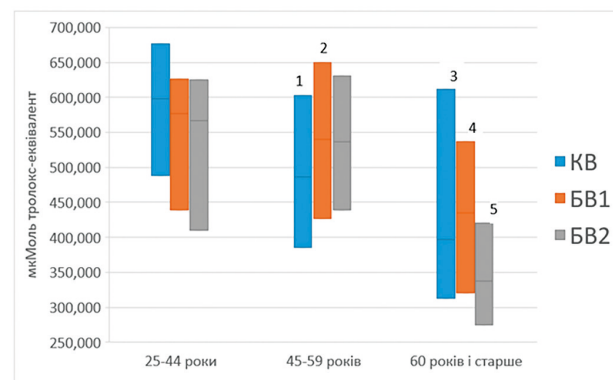


Рис. 1. Значення ТАА у пацієнтів основної групи залежно від календарного та біологічного віку. Примітки: КВ – календарний вік; БВ1 – біологічний вік, розрахований за методом Горелкіна О. Г. і Пінхасова Б. Б.; БВ2 – біологічний вік, розрахований за методом Войтенко В. П.; 1 – $p=0,010$ порівняно з групою 25-44 років; 2 – $p=0,001$ порівняно з групою 60 років і старше; 3, 4, 5 – $p=0,029$, $p=0,006$ та $p=0,034$, відповідно, порівняно з групою 25-44 роки

В дослідженні Kobayashi, S., Suga, H. and Sasaki, S. (2017) було показано, що активність антиоксидантних процесів мала негативний зв'язок з розвитком од-

ного з найбільш поширених геріатричних синдромів, а саме з синдромом крихкості [15]. В систематичному огляді Nascimento-Souza M.A. (2018) підкреслили наявність негативного зв'язку між антиоксидантним захистом та ризиком розвитку хронічних захворювань, що, безумовно, впливає на якість та тривалість життя [16]. Також відомо, що процеси антиоксидантного захисту покращують функцію ендотелію, нормалізують ремоделювання судин та зменшують жорсткість артерій, що є основним механізмом васкулярного старіння [17]. Особливо важливою є наявність антиоксидантного захисту пацієнтів з АГ, у яких погіршення стану судин ще більш виражені. У цієї категорії пацієнтів передчасне старіння може бути обумовлене порушенням антиоксидантного захисту, тому визначення БВ може бути більш ефективним з метою оцінки темпів старіння, на відміну від КВ.

ВИСНОВКИ

Продемонстровано зв'язки календарного віку з показниками антиоксидантного стану, а саме з рівнем загальної антиоксидантної здатності в контрольній групі та тотальної антиоксидантної активності у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. Натомість зв'язок цих показників з біологічним віком спостерігався тільки у пацієнтів з артеріальною гіпертензією, що може свідчити про ефективність розрахунку біологічного віку за методами Горелкіна О. Г., Пінхасова Б. Б. та Войтенко В. П. з метою оцінки темпів старіння у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. У пацієнтів молодого віку визначення рівнів тотальної антиоксидантної активності, порівняно з загальною антиоксидантною здатністю, може мати більшу діагностичну користь. Характер змін тотальної антиоксидантної активності у пацієнтів з артеріальною гіпертензією середньої вікової категорії є відмінним від пацієнтів молодого та похилого віку і потребує подальшого вивчення з урахуванням інших можливих чинників.

Перспективи подальших досліджень полягають в пошуку асоціацій між КВ, БВ та метаболічними показниками з метою кращого розуміння механізмів темпів прогресування старіння.

REFERENCES

1. Mensah G.A., Roth G.A., Fuster V. The global burden of cardiovascular diseases and risk factors: 2020 and beyond. *J Am Coll Cardiol*. 2019 Nov;74(20):2529-32. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.10.009
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109719379288?via%3Dihub>
Publisher site: <https://www.jacc.org/doi/full/10.1016/j.jacc.2019.10.009>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31727292/>
2. Kyu H.H., Abate D., Abate K.H., Abay S.M., Abbafati C., Abbasi N., Abbastabar H., Abd-Allah F., Abdela J., Abdelalim A., Abdollahpour I. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):1859-922. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32335-3
View at: Publisher site: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(18\)32335-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(18)32335-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30415748/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6252083/>
3. Sena C.M., Leandro A., Azul L., Seiça R., Perry G. Vascular oxidative stress: impact and therapeutic approaches. *Frontiers in physiology*. 2018 Dec 4;9:1668. DOI: 10.3389/fphys.2018.01668
View at: Publisher site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01668/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30564132/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6288353/>
4. Mozos I., Luca C.T. Crosstalk between oxidative and nitrosative stress and arterial stiffness. *Current vascular pharmacology*. 2017 Sep 1;15(5):446-56. DOI: 10.2174/1570161115666170201115428
View at: Publisher site: <https://www.eurekaselect.com/149663/article>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28155616/>
5. Kolesnikova O.V., Radchenko A.O. [Modern view on the mechanisms of oxidative stress and its biomarkers in a larger number of non-communicable diseases]. *Ukrainian Therapeutic Journal*. 2020(1):51-61. [in Ukrainian] DOI: 10.30978/UTJ2020-1-51
View at: Publisher site: <http://utj.com.ua/article/view/199328>
6. Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L., Della-Morte D., Gargiulo G., Testa G., Cacciatore F., Bonaduce D., Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*. 2018;13:757. DOI: 10.2147/CIA.S158513
View at: Publisher site: <https://www.dovepress.com/oxidative-stress-aging-and-diseases-peer-reviewed-full-text-article-CIA>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29731617/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5927356/>
7. Galkin F., Mamoshina P., Aliper A., de Magalhães J.P., Gladyshev V.N., Zhavoronkov A. Biohorology and biomarkers of aging: current state-of-the-art, challenges and opportunities. *Ageing research reviews*. 2020 Jul 1;60:101050. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101050
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163719302582?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32272169/>
8. Vojtenko V.P., Tokar' A.V., Poljuhov A.M. [Method for determining the biological age of a person]. *Gerontolo-*

- gy and geriatrics. 1984;1984:133. [in Russian]
9. Gorelkin A.G., Pinhasov B.B. [Method for determining biological age of a person and aging rate]. Pat. RF №2387374 from 22.06.2008. [in Russian]
View at: URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37728122>
10. Farhangi M.A., Vajdi M., Fathollahi P. Dietary total antioxidant capacity (TAC), general and central obesity indices and serum lipids among adults: An updated systematic review and meta-analysis. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2020 Aug 11;1-17. DOI: 10.1024/0300-9831/a000675
View at: Publisher site: <https://econtent.hogrefe.com/doi/10.1024/0300-9831/a000675>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32777987/>
11. Petelin A., Tedeschi P., Maietti A., Jurdana M., Brandolini V., Pražnikar Z.J. Total serum antioxidant capacity in healthy normal weight and asymptomatic overweight adults. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2017 Jul;125(07):470-7. DOI: 10.1055/s-0043-107783
View at: Publisher site: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0043-107783>
12. Mozaffari H., Daneshzad E., Surkan P.J., Azadbakht L. Dietary total antioxidant capacity and cardiovascular disease risk factors: a systematic review of observational studies. *Journal of the American College of Nutrition*. 2018 Aug 18;37(6):533-45. DOI: 10.1080/07315724.2018.1441079
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07315724.2018.1441079?journalCode=uacn20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29714643/>
13. Pawluk H., Pawluk R., Robaczewska J., Kędziora-Kornatowska K., Kędziora J. Biomarkers of antioxidant status and lipid peroxidation in elderly patients with hypertension. *Redox Report*. 2017 Nov 2;22(6):542-6. DOI: 10.1080/13510002.2017.1372072
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13510002.2017.1372072>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28873049/>
14. Villaverde P., Lajous M., MacDonald C.J., Fagherazzi G., Bonnet F., Boutron-Ruault M.C. High dietary total antioxidant capacity is associated with a reduced risk of hypertension in French women. *Nutrition journal*. 2019 Dec;18(1):1-10. DOI: 10.1186/s12937-019-0456-0
View at: Scopus: <https://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12937-019-0456-0>
15. Kobayashi S, Suga H, Sasaki S. Diet with a combination of high protein and high total antioxidant capacity is strongly associated with low prevalence of frailty among old Japanese women: a multicenter cross-sectional study. *Nutrition journal*. 2017 Dec;16(1):1-2. DOI: 10.1186/s12937-017-0250-9
View at: Scopus: <https://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12937-017-0250-9>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28499379/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5429552/>
16. Nascimento-Souza MA, Paiva PG, Martino HS, Ribeiro AQ. Dietary total antioxidant capacity as a tool in health outcomes in middle-aged and older adults: a systematic review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2018 Apr 13;58(6):905-12. DOI: 10.1080/10408398.2016.1230089
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2016.1230089?journalCode=bfsn20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27646047/>
17. Griendling K.K., Camargo L.L., Rios F.J., Alves-Lopes R., Montezano A.C., Touyz R.M. Oxidative stress and hypertension. *Circulation Research*. 2021 Apr 2;128(7):993-1020. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318063
View at: Publisher site: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.121.318063>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33793335/>

Article history
Received: 30.04.2021
Revision requested: 17.05.2021
Revision received: 12.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

СВЯЗЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ С КАЛЕНДАРНЫМ И БИОЛОГИЧЕСКИМ ВОЗРАСТОМ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Радченко А.О., Колесникова Е.В.

*Государственное учреждение «Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины»,
Харьков, Украина*

anastasha.radchenko@gmail.com

Актуальность. Актуальность исследования обусловлена увеличением распространенности артериальной гипертензии (АГ) с возрастом, а также наличием общего механизма развития с процессами старения, а именно: с нарушением антиоксидантной защиты. Учитывая изменения в антиоксидантном состоянии с возрастом, изучение их связи с биологическим возрастом (БВ) может быть полезным у этой категории пациентов.

Цель: изучить изменения антиоксидантного статуса у пациентов АГ различной возрастной категории и взаимосвязь с календарным возрастом (КВ) и БВ, рассчитанным по двум амбулаторными методами.

Материалы и методы. В исследование было включено 96 пациентов со средним возрастом 50,8±14,3 года (53,1% женщин), которые были разделены на 2 группы: основная (n=71) – пациенты с АГ 1-2 степени 1-2 стадии с низким и умеренным кардио-

васкулярным риском, контрольная (n=25) – здоровые пациенты, рандомизированные по возрасту и полу. Пациенты основной группы были разделены на подгруппы в зависимости от возраста: 25-44 года (n=21), 45-59 лет (n=25) и старше 60 лет (n=25). Всем пациентам определяли маркеры антиоксидантной защиты: общую антиоксидантную способность (ОАС) и тотальную антиоксидантную активность (ТАА), а также рассчитывали БВ по методу Горелкина А. Г. и Пинхасова Б. Б. (БВ1) и по методу Войтенко В. П. (БВ2).

Результаты. Пациенты основной группы имели более высокий БВ1 ($p=0,024$), БВ2 ($p=0,004$), больший вес ($p=0,010$), индекс массы тела ($p=0,008$), объем талии ($p=0,003$). Также у пациентов с АГ, по сравнению с контролем, наблюдались тенденции к увеличению ОАС и уменьшению ТАА, хотя различия не были значимы. Была обнаружена корреляция между КВ и ОАС ($r=0,422$; $p=0,032$) в группе контроля, а в основной группе наблюдалась связь между КВ и ТАА ($r=-0,357$; $p=0,003$), сила которой увеличивалась у пациентов молодого возраста ($r=-0,412$; $p=0,037$). При сравнении уровней маркеров антиоксидантного состояния у пациентов с АГ в зависимости от КВ и БВ не было выявлено достоверной разницы в уровнях ОАС, тогда как уровни ТАА были самыми низкими в группе пациентов 25-44 лет ($p < 0,05$). При распределении пациентов в зависимости от БВ было еще более заметным снижение ТАА у пациентов старше 60 лет, по сравнению с контролем.

Выводы. Была продемонстрирована связь КВ с уровнем ОАС в контрольной группе и ТАА в основной. Связь этих показателей с БВ наблюдалась только у пациентов с АГ, что может свидетельствовать об эффективности расчета БВ по методам Горелкина А. Г., Пинхасова Б. Б. и Войтенко В. П. для оценки темпов старения у пациентов с АГ. У пациентов молодого и пожилого возраста определение уровней ТАА может иметь большую диагностическую пользу, чем определение ОАС. Характер изменений ТАА у пациентов с АГ средней возрастной категории, отличный от пациентов молодого и пожилого возраста, что требует дальнейшего изучения с учетом других возможных факторов.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, общая антиоксидантная способность, тотальная антиоксидантная активность, биологический возраст

ASSOCIATION BETWEEN OF ANTIOXIDANT PROTECTION WITH CHRONOLOGICAL AND BIOLOGICAL AGE IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Radchenko A.O., Kolesnikova O.V.

Mala Therapy National Institute NAMS, Kharkiv, Ukraine

anastasha.radchenko@gmail.com

Relevance. The study is relevant due to the increase in the prevalence of arterial hypertension (AH) with age, as well as the presence of common developmental mechanism with aging processes, that is a violation of antioxidant protection. Given the changes in the antioxidant state with age, studying their relationship with biological age (BA) may be useful in this category of patients.

Objective: to study changes in antioxidant status in AH patients of various age categories and their relationship with calendar age (CA) and BA, calculated using two outpatient methods.

Materials and methods. The study included 96 patients with an average age of 50.8 ± 14.3 years (53.1% of women), who were divided into 2 groups: the main group (n=71) – patients with AH degrees 1-2 stages 1-2 with low and moderate cardiovascular risk, controls (n=25) – healthy patients randomized by age and sex. Patients of the main group were divided into subgroups depending on age: 25-44 years (n=21), 45-59 years (n=25) and over 60 years (n=25). Markers of antioxidant protection: total antioxidant capacity (TAC) and total antioxidant activity (TAA) were determined in all patients. BA was calculated using the method of A. G. Gorelkin and B. B. Pinkhasov (BA1) and V.P. Voitenko's method (BA2).

Results. Patients of the main group had higher BA1 ($p=0.024$), BV2 ($p=0.004$), greater weight ($p=0.010$), body mass index ($p=0.008$), waist circumference ($p=0.003$). Also, there were tendencies towards an increase in TAC and a decrease in TAA in AH patients, compared with controls, although the differences were not significant. Correlation was found between CA and TAC ($r=0.422$; $p=0.032$) in the controls, and in the main group there was an association between CA and TAA ($r=-0.357$; $p=0.003$), the strength of which increased in young patients ($r=-0.412$; $p=0.037$). When comparing the levels of antioxidant state markers in AH patients depending on CA and BA, there was no significant difference in TAC levels, while TAA levels were the lowest in the group of patients aged 25-44 ($p < 0.05$). After grouping patients depending on BA, there was an even more noticeable decrease in TAA in patients over 60 years old compared to controls.

Conclusions. The associations between CA and the level of TAC in the controls and TAA in the main group were demonstrated. The relationship of these parameters with BA was observed only in patients with AH, which may indicate the effectiveness of BA evaluating using the methods of A. G. Gorelkin, B. B. Pinkhasov, and V. P. Voitenko for assessing the aging rate in AH patients. In young and elderly patients, the determination of TAA levels may be of greater diagnostic value than the determination of TAC. The nature of TAA changes in AH patients of the middle age, is different from patients of young and old age, which requires further study, taking into account other possible factors.

Key words: arterial hypertension, total antioxidant capacity, total antioxidant activity, biological age

АСОЦІАЦІЯ СЕРОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ З ЧАСТОТОЮ ДОСЯГНЕННЯ КЛІНІЧНОЇ ТА РЕНТГЕНОЛОГІЧНОЇ РЕМІСІЇ ПРИ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ

Яременко О.Б. <https://orcid.org/0000-0003-2095-5819>
Микитенко Г.М. <https://orcid.org/0000-0002-3385-3080>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

o.b.iaremenko@gmail.com

Актуальність. Досягнення ремісії є однією з основних цілей у лікуванні хворих на ревматоїдний артрит (РА). Одним з визначальних предикторів перебігу захворювання, згідно літературних джерел, є серологічний варіант РА. Однак в наукових публікаціях зустрічаються суперечливі дані щодо зв'язку наявності антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (аЦЦП) і/або ревматоїдного фактору (РФ) та частоти, а також швидкості настання ремісії. Немає в літературі й однозначної думки стосовно впливу титру серологічних маркерів РА (аЦЦП і РФ) на можливість досягнення клінічної та рентгенологічної ремісії на фоні базисного лікування, що спонукало до проведення власного дослідження з метою вивчення цього питання.

Ціль: вивчити взаємозв'язок між наявністю/відсутністю серологічних маркерів РА (аЦЦП, РФ) та частотою і часом настання клінічної та рентгенологічної ремісії РА під впливом лікування традиційними синтетичними базисними препаратами та проаналізувати залежність між титром аЦЦП та РФ та можливістю досягнення ремісії при РА.

Матеріали та методи. У дослідження було включено 128 пацієнтів. Аналіз активності РА і оцінку досягнення ремісії проводили через 6, 12 і 24 місяці лікування, використовуючи шкалу активності DAS28 та динаміку рентгенологічних змін за шкалою Шарпа-ван дер Хейде.

Результати. Протягом 2-річного спостереження клінічна ремісія спостерігалась втричі частіше в групі хворих, негативних за аЦЦП (у 36,1% в групі аЦЦП-РФ- порівняно з 12,5% в групі аЦЦП+РФ+, $\chi^2=7,74$, $p<0,05$; та у 33,3% в групі аЦЦП-РФ+, достовірна різниця порівняно з аЦЦП+РФ+, $\chi^2=4,55$, $p<0,05$). Рання ремісія (протягом перших 6 місяців лікування) також зустрічалась частіше в групі хворих з відсутністю аЦЦП (відповідно $\chi^2=10,7$, $p<0,01$ та $\chi^2=6,69$, $p<0,05$). Швидкість настання ремісії (частка ранньої в структурі загальної) в чотирьох аналізованих групах достовірно не відрізнялась і складала відповідно 75%, 66,6%, 66,6% та 84,6%. Титр аЦЦП в групі хворих, що досягли ремісії, становив $240,8\pm 38,5$ і достовірно не відрізнявся від такого в групі хворих, активність РА яких перевищувала поріг ремісії ($187,8\pm 13,7$, $p>0,05$). Також не було суттєвої різниці між цими двома групами в титрах РФ: $257,9\pm 233,8$ та $293,2\pm 257,3$, відповідно. Рентгенологічна ремісія досягалась у 46,7% негативних за аЦЦП хворих і лише у 10,6% аЦЦП-позитивних ($p<0,01$). Відсутність в крові РФ також асоціювалась з частішим досягненням рентгенологічної ремісії (у 34,2% хворих) порівняно з РФ-позитивною когортою хворих (у 15,4%, $p<0,05$).

Висновки. Встановлено, що частота досягнення клінічної ремісії, в тому числі ранньої (протягом перших 6 місяців лікування), є втричі вищою у хворих на РА, негативних за аЦЦП. Швидкість настання клінічної ремісії (співвідношення ранньої в структурі загальної) не залежить від серологічного варіанту захворювання: близько двох третин пацієнтів в усіх аналізованих групах досягають ремісії в перше півріччя базисної терапії. Титри основних серологічних маркерів РА (аЦЦП та РФ) в дебюті захворювання не впливають на можливість досягнення клінічної та рентгенологічної ремісії. Рентгенологічна ремісія спостерігається втричі частіше у серонегативних (за аЦЦП чи РФ) хворих. Подвійна серопозитивність має адитивний ефект щодо подальшої суглобової деструкції.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, серологічний варіант, клінічна ремісія, рентгенологічна ремісія, базисна терапія.

Актуальність. Досягнення ремісії є однією з основних цілей у лікуванні хворих на ревматоїдний артрит (РА) [1, 2]. Серед ключових факторів, що впливають на частоту зниження активності хвороби, в тому числі настання ремісії, визначальне місце посідає серологічний варіант РА в дебюті захворювання [3-7].

Більшість дослідників схиляються до думки, що частота ремісії при РА є вищою у серонегативних пацієнтів [5, 8, 9], однак літературні дані є суперечливими. Зокрема, результати, отримані в дослідженні IMPROVED, свідчили про достовірно нижчу частоту досягнення ремісії у хворих з наявністю антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (аЦЦП) [10]. Було показано співставні результати лікування у хво-

рих, серонегативних за серопозитивних за обома маркерами захворювання [11]. Разом з тим, інші автори в своїх публікаціях [12, 13] описують вірогідно кращу відповідь аЦЦП-позитивних пацієнтів на лікування метотрексатом (МТ), в тому числі досягнення ремісії, порівняно з плацебо, на відміну від серонегативних хворих, ефективність лікування яких МТ була співставною з плацебо.

В наукових публікаціях не зустрічаємо й єдиної думки щодо зв'язку серологічного варіанту РА з терміном настання клінічної ремісії. Так, є дані, що одночасна присутність аЦЦП та ревматоїдного фактору (РФ) у крові хворих на РА асоціюється з швидшим настанням клінічної ремісії [14]. За даними інших авторів, наявність аЦЦП є предиктором агресивного

перебігу хвороби з більш пізнім зниженням активності РА [15].

Прогностичне значення не лише наявності, але й рівня аЦЦП вивчали у своїх роботах Lindqvist E. та Wevers-de Boer K. зі співавт. [10, 15]. Встановлено прямий корелятивний зв'язок між титром аЦЦП та прогресуванням РА. В роботі Takeuchi Tsutomu зі співавт. [16] дослідники стверджують, що високі титри обох серологічних маркерів (аЦЦП та РФ) в дебюті захворювання асоціюються з гіршою відповіддю на лікування. Інші дослідники такого впливу не підтвердили [17].

Якщо поняття клінічної ремісії асоціюється насамперед з відсутністю синовіту (клінічно та за даними візуалізаційних методів) та нормалізацією гострофазових показників, то під рентгенологічною ремісією розуміють зупинку прогресування структурних ушкоджень суглобів. Згідно результатів міжнародних досліджень, рентгенологічна ремісія досягається значно частіше у серонегативних хворих [18, 19]. Наприклад, дані довготривалого (понад 5 років) спостереження за пацієнтами, що брали участь у дослідженні CIMESTRA, засвідчили, що на фоні 5-річної базисної терапії (БТ) рентгенологічної ремісії досягли 47% хворих [20], переважна більшість яких були аЦЦП-негативними. Так само і за спостереженнями Hetland ML зі співавт. (2019), наявність аЦЦП при РА асоціювалась зі швидким розвитком ерозивної суглобової деструкції та більш рідким настанням ремісії порівняно з серонегативними пацієнтами. За даними інших авторів [19], наявність не лише аЦЦП, але й РФ прискорює рентгенологічне прогресування. Водночас в роботі французьких дослідників [21] відсутність класичних негативних прогностичних факторів РА (РФ та аЦЦП) не асоціювалась з частішим настанням ремісії. Порівняльний аналіз перебігу хвороби залежно від серологічного статусу пацієнтів продемонстрований в 2-річному дослідженні ARCTIC [22]. Автори дійшли висновку, що рентгенологічне прогресування не залежить від серологічного варіанту РА, більше того, у серонегативних хворих час настання ремісії є довшим порівняно з серопозитивними пацієнтами.

Отже, одноставної думки стосовно зв'язку рівня аЦЦП/РФ та частоти й часу настання клінічної та рентгенологічної ремісії на фоні базисного лікування в літературних джерелах немає, що спонукало до проведення власного дослідження з метою вивчення цього питання.

Ціль: вивчити взаємозв'язок між наявністю/відсутністю серологічних маркерів РА (аЦЦП, РФ) та частотою і часом настання клінічної та рентгенологічної ремісії РА під впливом лікування традиційними синтетичними базисними препаратами та проаналізувати залежність між титром аЦЦП та РФ та можливістю досягнення ремісії при РА.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Пацієнти. В дослідження було включено 128 пацієнтів з РА, які на час включення в дослідження перебували на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні м. Києва. Діагноз РА встановлювали на основі критеріїв Американської ревматологічної асоціації (ARA, 1987) [23]. Критеріями включення хворих у дослідження були достовірність діагнозу РА; вік хворих на початку захворювання старше 18 років; припинення прийому базисних препаратів, призначених попередньо, не менш, як за 3 місяці до початку дослідження, відсутність внутрішньосуглобових та внутрішньом'язових ін'єкцій пролонгованих глюкокортикоїдів (ГК) не менш, як за місяць до початку дослідження. Не включали хворих з психоемоційними розладами, алкоголізмом, вагітністю і лактацією на період дослідження, з важкими захворюваннями печінки, нирок, легенів та інших органів, які могли суттєво вплинути на фармакодинаміку препаратів та ефективність лікування, а також тих, які не з'явилися на 3 повторні візити (через 6, 12 та 24 місяці).

Дизайн дослідження. Тривалість спостереження складала 2 роки. Аналіз активності РА та оцінку досягнення ремісії проводили через 6, 12 та 24 місяці лікування. На кожному з етапів дослідження здійснювали підрахунок кількості болючих, набряклих суглобів, оцінювали зміни стану пацієнта за візуальною аналоговою шкалою, визначали рівень ШОЕ та СРБ, а також активність хвороби за DAS28. Згідно з рекомендаціями EULAR, критерієм клінічної ремісії [24] вважали зниження DAS28 нижче 2,6. Ранньою вважали ремісію, що була досягнута протягом перших 6 місяців терапії; стійкою – ремісію, що зберігалася протягом усього періоду спостереження. Швидкість настання ремісії в різних групах хворих оцінювали шляхом визначення співвідношення частки ранньої ремісії до усіх випадків ремісії в аналізованій період.

Базисне лікування передбачало призначення одного з таких варіантів терапії: МТ (7,5-20 мг/тиждень, в середньому – 11,6±0,29 мг/тиждень, 77 особа), лефлуномід (ЛЕФ) (10-20 мг/добу, в середньому – 19,2±0,28 мг/добу, 18 осіб), сульфасалазин (СС) (2 г/добу, 12 осіб) або гідроксихлорохін (ГХ) в дозі 200-400 мг/добу (4 хворих). Комбіновану БТ (КБТ) (МТ + СС, МТ + ГХ, МТ + ЛЕФ, ЛЕФ + ГХ, ЛЕФ + СС) приймали 17 осіб. До призначення цих базисних препаратів 118 хворих (92,2%) не отримували БТ, у решти хворих її (переважно МТ) було відмінено через розвиток побічних дій за 3 місяці до включення в дослідження. Глюкокортикоїди (ГК) призначали за стандартними показаннями у початкових дозах від 2,5 до 30 мг/добу в перерахунку на пероральний преднізолон з подальшим зниженням дози аж до відміни.

Оцінка серологічних маркерів. Титр РФ визначали методом латекс-аглютинації (Humateх, Німеччина). Референтні значення < 20 IU/ml. Рівень аЦЦП у сироватці крові визначали методом імуоферментного аналізу («iEMS» Lab System, Фінляндія) з використанням набору фірми «IBL-Hamburg» (Німеччина). Діагностична межа а-ЦЦП – ≥ 15 U/ml, максимальне значення – ≥ 345 U/ml. Низьким вважали титр РФ нижче 55 IU/ml, високим – понад 160 IU/ml, відповідно, титр аЦЦП < 42 U/ml вважали низьким, > 100 U/ml – високим [16].

Оцінка рентгенологічних змін. Рентгенологічні зміни кистей та стоп до початку дослідження та через 2 роки спостереження здійснювали шляхом кількісного підрахунку (вираженого в балах) за модифікованою шкалою Шарпа-ван дер Хейде [25]. Рентгенологічною ремісією через 2 роки лікування вважали одночасну відсутність збільшення кількості ерозій і ступеня звуження суглобової щілини [26].

Дослідження проводилось відповідно до етичних принципів Гельсінської декларації та рекомендацій щодо належної клінічної практики та було схвалено відповідними інституційними комісіями з огляду.

Статистичний аналіз. Статистичну обробку даних проводили за допомогою варіаційної статистики з обчисленням U-критерій Манна-Уїтні для оцінки вірогідності різниці середніх величин; критерію χ^2 , у т.ч. з поправкою Йейтса, для частотних показників, та точним методом Фішера. Демографічні показники та клінічні характеристики описувались як у вигляді відносних показників (%), так і абсолютних значень: медіана (діапазон мінімальних та максимальних значень). Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$. При використанні критерію χ^2 для оцінки достовірності різниці користувались табличними значеннями.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік включених пацієнтів складав від 23 до 81 років, тривалість хвороби – $18,4 \pm 3,18$ міс (від 0,5 до 360 міс). Переважали особи жіночої статі (74,2 %). Ранній РА (≤ 2 р.) спостерігався у 81,6 % випадків (95 хворих). У всіх хворих оцінювали показники суглобового статусу, рівні С-реактивного білка (СРБ), РФ та аЦЦП до початку небіологічної БТ. 73 (57,0 %) особи були серопозитивними за РФ, 83 (64,8 %) – за аЦЦП.

Згідно результатів серологічного аналізу, хворі були розподілені на чотири групи: з наявністю аЦЦП та РФ (аЦЦП+РФ+, $n=64$), з наявністю лише одного з маркерів захворювання – аЦЦП (аЦЦП+РФ-, $n=19$) або РФ (аЦЦП-РФ+, $n=9$) та з негативними результатами (аЦЦП-РФ-, $n=36$).

Загальну характеристику хворих, що були включені в аналіз, подано в таблиці 1.

Як видно з таблиці, за віком, статтю, тривалістю РА, активністю хвороби, рентгенологічними змінами

та призначеною терапією достовірних відмінностей між аналізованими групами не було ($p > 0,05$). Спостерігалась тенденція до дещо вищої клінічної активності (за DAS28) у серопозитивних хворих. Асоціацію між наявністю аЦЦП та вищою клініко-лабораторною активністю РА було відзначено і в інших роботах [27, 28, 29, 30].

Протягом 2-річного спостереження клінічної ремісії загалом досягли 27 (21,1 %) хворих, у тому числі раннє досягнення ремісії спостерігалось у 25 (19,5 %), стійкою вона була у 21 (16,4 %) хворих, ремісія наставала швидко у 25 (92,6 % серед осіб, що досягли ремісії) хворих. Параметри ремісії залежно від серологічного статусу представлено на рисунку 1.

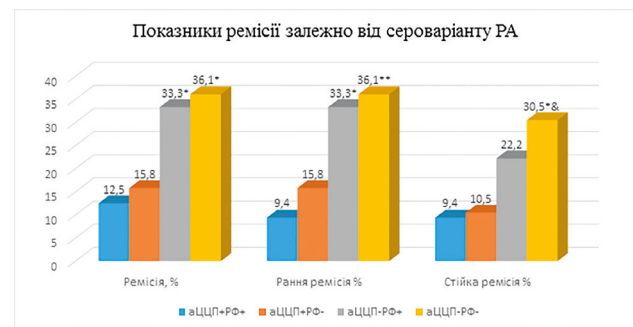


Рис.1. Показники клінічної ремісії залежно від серологічного статусу хворих на РА.

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ порівняно з групою хворих аЦЦП+РФ+;

& – $p < 0,05$ порівняно з групою хворих аЦЦП+РФ-.

Ці дані свідчать про те, що ремісія досягалась втричі частіше в групі хворих, негативних за аЦЦП (у 36,1 % в групі аЦЦП-РФ- порівняно з 12,5 % в групі аЦЦП+РФ+, $\chi^2=7,74$, $p < 0,05$; та у 33,3 % в групі аЦЦП-РФ+ , достовірна різниця порівняно з аЦЦП+РФ+, $\chi^2=4,55$, $p < 0,05$). Рання ремісія також зустрічалась частіше в групі хворих з відсутністю аЦЦП (відповідно $\chi^2=10,7$, $p < 0,01$ та $\chi^2=6,69$, $p < 0,05$). Така ж тенденція зберігалась і при оцінці частоти досягнення стійкої ремісії ($\chi^2=7,32$ та 3,98 у осіб з подвійною серонегативністю порівняно з групами аЦЦП+РФ+ та аЦЦП+РФ- відповідно, $p < 0,05$).

Водночас, швидкість настання ремісії (частота ранньої в структурі загальної ремісії) в чотирьох аналізованих групах достовірно не відрізнялась і складала відповідно 75 %, 66,6 %, 66,6 % та 84,6 %. При узагальненні результатів виявилось, що в об'єднаній групі хворих, позитивних за аЦЦП, відсоток хворих, що досягли ремісії, не відрізнявся від цього показника в об'єднаній групі хворих, негативних за аЦЦП (81,8 % та 81,3 %, відповідно).

Проаналізовано вплив рівня аЦЦП та РФ на частоту настання ремісії. Встановлено, що в групі серопозитивних хворих, які досягли ремісії, титр антитіл до ЦЦП ($240,8 \pm 38,5$) достовірно не відрізнявся від

Таблиця 1

Клініко-демографічні, лабораторні та рентгенологічні дані хворих з серонегативним та серопозитивним варіантами РА до призначення БТ

Показники	Групи хворих залежно від серологічного варіанту РА			
	аЦЦП+РФ+ (n=64)	аЦЦП+РФ- (n=19)	аЦЦП-РФ+ (n=9)	аЦЦП-РФ- (n=36)
Жінки, %	78,1	84,2	88,9	86,1
Чоловіки, %	21,9	15,8	11,1	13,9
Вік, роки, медіана (min-max) (M±σ)	50 (28-70) 50,7±10,6	52 (25-69) 50,9±12,7	61 (24-81) 57,6±15,5	56 (23-70) 56,8±9,71
Тривалість РА, місяці, медіана (min-max) (M±σ)	14 (1-120) 19,8±21,7	7,5 (2-30) 15,9±21,1	4 (1-120) 26,7±41,3	8 (0,5-360) 26,2±61,1
DAS28, медіана (min-max) (M±σ)	6,14 (3,52-7,76) 5,99±0,99	6,25 (3,26-8,30) 6,06±1,34	5,20 (3,92-7,06) 5,61±0,99	5,37 (3,23-7,46) 5,41±1,18
SHS, бали, медіана (min-max) (M±σ)	16 (4-124) 14,7±10,9	13 (8-124) 15,3±12,5	22 (6-99) 32,5±35,3	19 (2-50) 20,0±12,1
БТ призначена вперше, % (n)	89	94,7	88,8	91,6
Базисні препарати, %:				
МТ	37	11	6	23
ЛЕФ	10	2	1	5
СС	8	1	0	3
ГХ	1	3	0	0
КБТ	8	2	2	5
ГК перорально, %	76,5	73,6	66,6	61,1
Середня доза ГК, мг/добу, медіана (min-max) (M±σ)	15 (5-30) 13,8±4,75	15 (10-30) 17,5±8,44	10 (7,5-15) 11,5±3,0	10 (7,5-25) 11,8±6,65

цього параметру в групі хворих, активність РА яких перевищувала поріг ремісії ($187,8 \pm 13,7$, $p > 0,05$). Взаємозв'язку між титром РФ та частотою досягнення ремісії нами також не виявлено: аналізований показник склав відповідно $257,9 \pm 233,8$ та $293,2 \pm 257,3$ в групах порівняння.

До початку дослідження нами було сформовано підгрупи хворих на РА залежно від титрів РФ та аЦЦП (рис. 2 та 3).

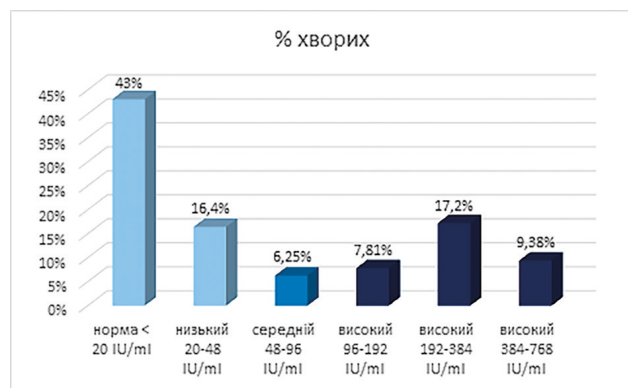


Рис. 2. Розподіл титрів РФ до початку дослідження

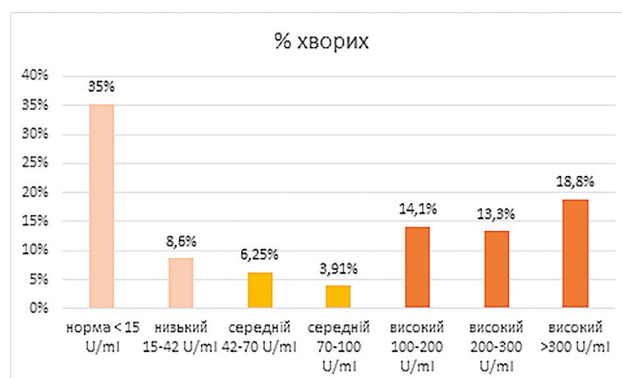


Рис. 3. Розподіл титрів аЦЦП до початку дослідження

Як видно з діаграм, низькі титри РФ та аЦЦП (включаючи показники, що нижче референтних значень) були відповідно у 43 % та 35 % хворих, високі – у 34,4 % та 46,1 % осіб. Вказаний розподіл щодо поняття «низькі» та «високі» титри серологічних маркерів РА зазначені і в науковій роботі Takeuchi T. [16]. Згідно даних автора, відсоток високих рівнів РФ та аЦЦП спостерігався у приблизно такої ж кількості хворих на РА: відповідно у 33 % та 58 % пацієнтів.

Частота досягнення клінічної ремісії у хворих з низьким та високим титрами РФ та аЦЦП

Групи хворих	Досягли ремісії, n (%)	Не досягли ремісії, n (%)
Низькі титри РФ, n=21	5 (23,8)	16 (76,2)
Високі титри РФ, n=45	6 (13,3)	39 (86,7)
Низькі титри аЦЦП, n=11	0 (0)	11 (100)
Високі титри аЦЦП, n=59	7 (11,8)	52 (88,2)

Серед 73 РФ-позитивних хворих 21 особа мала низькі титри РФ (<55 IU/ml), 45 – високі (>160 IU/ml). Низькі рівні аЦЦП (<42 U/ml) були виявлені у 11 осіб, високі (>100 U/ml) – у 59. Результати оцінки залежності настання ремісії від рівня РФ та аЦЦП подано в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, серед 21 серопозитивного хворого з низьким титром РФ п'ятеро досягли ремісії, що на 10 % частіше порівняно з альтернативною групою, однак різниця є недостовірною ($p > 0,05$). В групі хворих з наявністю аЦЦП жодний пацієнт з низьким рівнем антитіл не досяг ремісії, у групі порівняння активність РА знизилась нижче 2,6 у семи осіб ($p > 0,05$). Отже, за нашими даними, взаємозв'язку між рівнем РФ / аЦЦП та частотою настання клінічної ремісії не було.

Наступний етап роботи був присвячений вивченню частоти досягнення рентгенологічної ремісії у обстежених пацієнтів.

Серед 128 хворих, включених в дослідження, через 2 роки лікування 77 осіб мали рентгенографічні дані кистей та стоп. Рентгенологічної ремісії загалом досягли 19 (24,7 %) хворих. Параметри ремісії залежно від серологічного статусу наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

Показники рентгенологічної ремісії залежно від серологічного статусу хворих на РА

Групи хворих	Рентгенологічна ремісія, n (%)
аЦЦП+ (n=47)	5 (10,6)
аЦЦП- (n=30)	14 (46,7)**£
РФ+ (n=39)	6 (15,4)
РФ- (n=38)	13 (34,2)*£

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ порівняно з групою хворих аЦЦП+; £ – $p < 0,05$ порівняно з групою хворих РФ+.

Як видно з таблиці 3, пацієнти з аЦЦП-негативним статусом досягали ремісії в 3-4 рази частіше порівняно з серопозитивними пацієнтами (за аЦЦП чи РФ). Відсутність в крові РФ також сприяла настанню рентгенологічної ремісії у 2-3 рази частіше порівняно з серопозитивною когортою включених в дослідження хворих.

Було проаналізовано також вплив подвійної серонегативності на можливість призупинення подальшої суглобової деструкції (табл.4).

Таблиця 4

Показники рентгенологічної ремісії залежно від серологічного статусу хворих на РА

Групи хворих	Рентгенологічна ремісія, n (%)
аЦЦП+РФ+ (n=36)	5 (13,9)
аЦЦП+РФ- (n=11)	0 (0)
аЦЦП-РФ+ (n=3)	1 (33,3)
аЦЦП-РФ- (n=27)	13 (48,1)*

Примітки: * – $p < 0,01$ порівняно з групою хворих аЦЦП+РФ+; £ – $p < 0,001$ порівняно з групою хворих аЦЦП+.

Згідно отриманих даних, одночасна відсутність двох серологічних факторів негативного прогнозу РА сприяла досягненню ремісії у 48,1 % хворих, що втричі частіше порівняно з аЦЦП+РФ+ пацієнтами ($p < 0,01$).

За нашими даними, взаємозв'язку між рівнем РФ / аЦЦП та частотою настання рентгенологічної ремісії не було. Так, 30,7 % та 18,7 % хворих, відповідно з низьким та високим титрами РФ, досягли ремісії ($p > 0,05$). Відсутність деструктивних змін спостерігалась лише в одного хворого з низьким титром аЦЦП та у 3 осіб в групі порівняння.

Згідно літературних даних [2, 14] частота досягнення клінічної ремісії у хворих на РА коливається в межах 17-33 %, що залежить від дизайну дослідження, в тому числі застосування біологічної БТ. За результатами нещодавно проведеного систематичного огляду та метааналізу [2], що включав дані 31 дослідження (82450 хворих на РА) з наукометричних баз MEDLINE, EMBASE, and Scopus, частота ремісії складала від 17,2 % до 23,5 % (поступово зростаючи з 3 до 24 місяців лікування), що узгоджується з нашими результатами: близько 22 % хворих (33 % серонегативних, 12% – серопозитивних) досягли ремісії протягом першого півріччя БТ.

Вплив серологічного статусу на можливість настання ремісії вивчався кількома науковцями. В одних роботах [31] частота досягнення ремісії не залежала від серологічного варіанту РА. За даними інших авторів [14], більшість хворих у стадії ремісії виявилися аЦЦП-позитивними (ремісії досягли 43,5 % серопозитивних і 32,4 % серонегативних хворих на РА). Протилежний висновок зустрічаємо в роботі Rönnelid J. та співавт. (2005): автори публікації вважають аЦЦП-позитивний статус прогностично

несприятливим щодо прогресування хвороби. Так, за даними 5-річного спостереження, прогресування РА було вираженішим саме у цієї категорії хворих. Van der Helm-van Mil A.H. (2005) в своїй науковій роботі теж стверджує про меншу ймовірність настання ремісії за наявності аЦЦП в крові хворих на РА [32].

Отримані нами результати також свідчать про більшу частоту досягнення клінічної ремісії (в тому числі ранньої) при застосуванні небіологічних базисних препаратів у хворих із серонегативним (за аЦЦП і/чи за РФ) варіантом РА порівняно з хворими, позитивними за аЦЦП, у т.ч. при одночасній наявності РФ. Третина хворих, негативних за аЦЦП, перебувала в стадії ремісії протягом усього 2-річного періоду спостереження, тоді як в групах порівняння стійка ремісія відзначалась втричі рідше.

Час настання клінічної ремісії, залежно серологічного варіанту РА, вивчався в роботі Pore J.E. зі спів. (2018). Так, серопозитивним (за аЦЦП та РФ) пацієнтам вдавалося досягти ремісії достовірно швидше, ніж серонегативним хворим. Інші автори [5] стверджували, що наявність аЦЦП зумовлює не лише зниження частоти, але й подовження часу настання ремісії. В нашій роботі достовірних відмінностей щодо термінів досягнення ремісії у пацієнтів з різним серологічним статусом виявлено не було.

Високий титр аЦЦП в дебюті захворювання, за результатами Miriovsky B.J. (2010), зменшують ймовірність настання ремісії РА, тоді як дані корейських дослідників [33] стверджують протилежне: більшість пацієнтів в стадії ремісії були з подвійною серопозитивністю. За нашими спостереженнями, рівні аЦЦП та РФ у пацієнтів, що досягли ремісії, не відрізнялися від таких у хворих, яким не вдалось її досягти.

За даними міжнародних досліджень, досягти рентгенологічної ремісії, як одного з найважливіших показників ефективності терапії, вдається лише в третині випадків. Зокрема, за даними Hetland M.L. зі співавт. [18], цей показник склав 34 % (переважно на фоні прийому МТ). В нашому дослідженні відсутність суглобової деструкції через 2 роки лікування мала місце у кожного четвертого хворого. Як і у випадку клінічної ремісії, відмінності отриманих даних пов'язані з різницею в дизайні досліджень.

Вплив серологічного статусу на прогресування рентгенологічних змін вивчали в своїх роботах чимало дослідників [34, 18, 35]. В публікаціях більшості вчених продемонстрована вища частота досягнення рентгенологічної ремісії у серонегативних хворих [4, 18, 34, 35].

В роботі Park Eun-Jung, присвяченій вивченню впливу подвійної серонегативності на частоту настання ремісії, відсутність рентгенологічного прогресування спостерігалася майже у двох третин пацієнтів, за нашими даними, цей показник склав 48,1 %. Адитивний ефект одночасної присутності аЦЦП та

РФ відмічав у своїй роботі і Necht C. зі співавт. [36]. Згідно наших даних, прогресування деструктивних уражень спостерігалось у 66,6 % РФ-серопозитивних, водночас у РФ+ЦЦП+ осіб цей показник склав 86 %, отже, одночасна аЦЦП- та РФ-позитивність збільшувала кількість хворих з рентгенологічним прогресуванням на 20 %.

ВИСНОВКИ

Протягом 2 років спостереження клінічна ремісія за DAS28, у тому числі рання, у хворих на РА, які отримували традиційні синтетичні базисні препарати, досягається приблизно втричі частіше у разі негативності за аЦЦП. Стійка ремісія спостерігається вірогідно частіше у хворих, негативних за обома маркерами – РФ і аЦЦП. Швидкість настання ремісії (доля ранньої в структурі загальної частоти ремісії) не залежить від серологічного варіанту захворювання. Частота настання клінічної ремісії не залежить від титру аЦЦП та РФ в дебюті захворювання. Рентгенологічна ремісія спостерігається втричі частіше у серонегативних (за аЦЦП чи РФ) хворих. Подвійна серопозитивність має адитивний ефект щодо подальшої суглобової деструкції.

REFERENCES

- Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, Burmester GR, Dougados M, Kerschbaumer A, McInnes IB, Sepriano A, Vollenhoven RF, Wit M, Aletaha D, Aringer M, Askling J, Balsa A, Boers M, Broeder AA, Buch MH, Buttgerit F, Caporali R, Cardiel MH. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update FREE. *Ann Rheum Dis.* 2019;79(6):685-99. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-216655
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/79/6/685>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31969328/>
- Yu C, Jin S, Wang Y, Jiang N, Wu C, Wang Q, Tian X, Li M, Zeng X. Remission rate and predictors of remission in patients with rheumatoid arthritis under treat-to-target strategy in real-world studies: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Rheumatology.* 2019;38(3):727-738. DOI: 10.1007/s10067-018-4340-7.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10067-018-4340-7>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30341703/>
Europe PMC <https://europepmc.org/article/med/30341703>
- Miriovsky BJ, Michaud K, Thiele GM, O'Dell JR, Cannon GW, Kerr G, Richards JS, Johnson D, Caplan L, Reimold A, Hooker R, Mikuls TR. Anti-CCP antibody and rheumatoid factor concentrations predict greater disease activity in men with rheumatoid ar-

- thritus. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1292-1297. DOI: 10.1136/ard.2009.122739
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/69/7/1292>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20439294/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3122886/>
4. Rönnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, Vollenhoven RF. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis: anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:1744-1749. DOI: 10.1136/ard.2004.033571
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/64/12/1744>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15843452/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1755292/>
 5. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis.* 2004;63:1085-1089. DOI: 10.1136/ard.2003.016808.
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/63/9/1085>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15308517/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1755123/>
 6. Visser K., Verpoort KN., van Dongen H, Kooij SM, Allaart CF, Toes REM, Huizinga TWJ, van der Helm-van Mil AHM. Pretreatment serum levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies are associated with the response to methotrexate in recent-onset arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:1194-1195. DOI: 10.1136/ard.2008.088070
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/67/8/1194>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18621971/>
 7. Yilmaz-Oner S, Gazel U, Can M, Atagunduz P, Direrkeneli H, Inanc N. Predictors and the optimal duration of sustained remission in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2019;38(11):3033-3039. doi: 10.1007/s10067-019-04654-7.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10067-019-04654-7>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31270696/>
 8. Jadhav PP, Avhad JD, Mahajan M, Patel AM, Gavli HR, Jadhav JP, Khandelwal V. Dual antibody status predicts sustained remission in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J Rheumatol.* 2019;14:32-36. DOI: 10.4103/injr.injr_107_18.
View at: Publisher site: <https://www.indianjrheumatol.com/article.asp?issn=0973-3698;year=2019;volume=14;issue=1;spage=32;epage=36;aulast=Jadhav>
 9. Choe JY, Bae J, Lee H, Bae SC, Kim SK. Relation of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody with disease activity in rheumatoid arthritis: cross-sectional study. *Rheumatol Int.* 2013;33(9):2373-2379. DOI: 10.1007/s00296-013-2734-z.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00296-013-2734-z>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23553517/>
 10. Wevers-de Boer K, Visser K, Heimans L, Runday HK, Molenaar E, Groenendaal JHLM, Peeters AJ, Westedt ML, Collée G, Sonnaville PBJ, Grillet BAM, Huizinga TWJ, Allaart CF. Remission induction therapy with methotrexate and prednisone in patients with early rheumatoid and undifferentiated arthritis (the IMPROVED study). *Ann Rheum Dis.* 2012;71:1472-1477. doi:10.1136/annrheumdis-2011-200736.
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/71/9/1472>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22402145/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/22402145>
 11. Fedele AL, Gremese E, Bosello SL, Cianci F, Carbonella A, Gigante MR, Canestri S., Toluoso B., Ferraccioli G. Disease Characteristics, Treatment Response and Remission in A Prospective Early Rheumatoid Arthritis Cohort: Does Autoantibody Seropositivity Matter? *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2014;73(Suppl 2):262-262. DOI:10.1136/annrheumdis-2014-eular.4294.
View at: Publisher site: https://ard.bmj.com/content/73/Suppl_2/262.1
 12. Sokka T, Kyburz D, Rannio T, Antic M. Difficult cases: Seronegative rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;71:4. doi:10.1136/annrheumdis-2012-eular.1486.
View at: Publisher site: https://ard.bmj.com/content/71/Suppl_3/4.2
 13. Dongen H, Aken J, Lard LR, Visser K, Runday HK, Hulsmans HM, Speyer I, Westedt ML, Peeters AJ, Allaart CF, Toes RE, Breedveld FC, Huizinga TW. Efficacy of methotrexate treatment in patients with probable rheumatoid arthritis: double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2007;56(5):1424-1432. DOI: 10.1002/art.22525.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.22525>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17469099/>
 14. Pope JE, Movahedi M, Rampakakis E, Cesta A, Sampalis JS, Keystone E, Thorne C, Bombardier C. ACPA and RF as predictors of sustained clinical remission in patients with rheumatoid arthritis: data from the Ontario Best practices Research Initiative (OBRI). *RMD Open.* 2018;4(2):e000738. doi:10.1136/rmdopen-2018-000738
View at: Publisher site: <https://rmdopen.bmj.com/content/4/2/e000738>
 15. Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, Heinegard D. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(2):196-201. DOI: 10.1136/ard.2003.019992.
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/64/2/196>

- PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15458956/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1755350/>
16. Takeuchi T, Miyasaka N, Inui T, Yano T, Yoshinari T, Abe T, Koike T. High titers of both rheumatoid factor and anti-CCP antibodies at baseline in patients with rheumatoid arthritis are associated with increased circulating baseline TNF level, low drug levels, and reduced clinical responses: a post hoc analysis of the RISING study. *Arthritis Res Ther.* 2017; 19: 194. DOI: 10.1186/s13075-017-1401-2
View at: Publisher site: <https://arthritis-research.biomed-central.com/articles/10.1186/s13075-017-1401-2>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28865493/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5581496/>
 17. Gardette A, Ottaviani S, Tubach F, Roy C, Nicaise-Roland P, Palazzo E, GGill, Meyer O, Dieudé P. High anti-CCP antibody titres predict good response to rituximab in patients with active rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2014;81(5):416-420. DOI: 10.1016/j.jbspin.2014.06.001.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1297319X1400147X?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24998790/>
 18. Hetland ML, Østergaard M, Stengaard-Pedersen K, Junker P, Ejbjerg B, Jacobsen S, Ellingsen T, Lindgaard H, Pødenphant J, Vestergaard A, Jurik AG, Krogh NS, Hørslev-Petersen K, and the CIMESTRA study group. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, 28-joint Disease Activity Score, and magnetic resonance imaging bone oedema at baseline predict 11 years' functional and radiographic outcome in early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2019;48(1):1-8. DOI: 10.1080/03009742.2018.1466362.
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03009742.2018.1466362?journalCode=irhe20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30101636/>
 19. Quintana-Duque MA, Rondon-Herrera F, Mantilla RD, Calvo-Paramo E, Yunis JJ, Varela-Nariño A, Restrepo JF, Iglesias-Gamarra A. Predictors of remission, erosive disease and radiographic progression in a Colombian cohort of early onset rheumatoid arthritis: a 3-year follow-up study. *Clin Rheumatol.* 2016;35(6):1463-73. doi: 10.1007/s10067-016-3246-5.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10067-016-3246-5>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27041382/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/27041382>
 20. Hetland ML, Stengaard-Pedersen K, Junker P, Østergaard M, Ejbjerg BJ, Jacobsen S, Lottenburger T, Hansen I, Tarp U, Andersen LS, Svendsen A, Pedersen JK, Lauridsen UB, Ellingsen T, Lindgaard H, Podenphant J, Vestergaard A, Jurik AG, Hørslev-Petersen K. Radiographic progression and remission rates in early rheumatoid arthritis - MRI bone oedema and anti-CCP predicted radiographic progression in the 5-year extension of the double-blind randomised CIMESTRA trial. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(10):1789-1795. DOI: 10.1136/ard.2009.125534.
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/69/10/1789>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20444751/>
 21. Castrejón I, Dougados M, Combe B, Fautrel B, Guillemin F, Pincus T. Prediction of Remission in a French Early Arthritis Cohort by RAPID3 and other Core Data Set Measures, but Not by the Absence of Rheumatoid Factor, Anticitrullinated Protein Antibodies, or Radiographic Erosions. *J Rheumatol.* 2016;43(7):1285-91. doi: 10.3899/jrheum.141586.
View at: Publisher site: <https://www.jrheum.org/content/43/7/1285>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27084913/>
 22. Nordberg LB, Lillegraven S, Aga AB, Sexton J, Olsen IC, Lie E, Hammer HB, Uhlig T, van der Heijde D, Kvien TK, Haavardsholm EA. Comparing the disease course of patients with seronegative and seropositive rheumatoid arthritis fulfilling the 2010 ACR/EULAR classification criteria in a treat-to-target setting: 2-year data from the ARCTIC trial. *RMD Open.* 2018 Nov 16;4(2):e000752. doi: 10.1136/rmdopen-2018-000752. eCollection 2018.
View at: Publisher site: <https://rmdopen.bmj.com/content/4/2/e000752>
 23. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988; 31(3): 315-324. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.1780310302>.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/art.1780310302>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3358796/>
 24. Gestel AM, Prevoo MLL., van't Hof MA, Putte LB, Riel PL. Development and validation of the European League against rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1996; 39(1):34-40. DOI: 10.1002/art.1780390105.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/art.1780390105>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8546736/>
 25. van der Heijde D.M. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J. Rheumatol.* 2000; 27(1):261-263.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10648051/>
 26. Jäntti J, Kaarela K, Kautiainen H, Isomäki H, Aho K. Radiographic remission in seropositive rheumatoid arthritis. A 20-year follow-up study. *Clin Exp Rheumatol.* 2001;19(5):573-576.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11579719/>
 27. Iaremenko OB, Mikitenko GM. [Clinical and laboratory characteristics of rheumatoid art depending on

- the presence of antibodies to cyclic citrulline peptide]. Ukrainian rheumatological magazine. 2008;4:51-55. [in Ukrainian]
View at: Publisher site: <https://www.rheumatology.kiev.ua/wp/wp-content/uploads/magazine/34/51.pdf>
28. Iaremenko O, Mykytenko G, Fedkov D. [Effect of the main non-biological disease modifying antirheumatic drugs on radiographic progression in patients with different duration of rheumatoid arthritis]. Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods and Technologies. 2013;7(Pt 2): 421-431.
29. Ratnik K, Baranauskaitė A, Iancuta I, Vlák T. Data on the Impact of Anti-Cyclic-Citrullinated Peptide Antibody Status (ANTI-CCP) on the Management of Patients with Early Rheumatoid Arthritis. Ann Rheum Dis. 2014;73(Suppl 2): 884-884. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-eular.3845
30. Punder YD, Hendrikx J, Pascual VE, van Riel P, Fransen J. The relationship between inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis is dependent on anti-CCP status. Ann Rheum Dis. 2014;71(Suppl 3):510-511. DOI:10.1136/annrheumdis-2012-eular.3066
View at Publisher site: https://ard.bmj.com/content/71/Suppl_3/510.2
31. Barra L, Pope JE, Orav JE, Boire G, Haraoui B, Hitchon C, Keystone EC, Thorne JC, Tin D, Bykerk VP, and the CATCH Investigators. Prognosis of seronegative patients in a large prospective cohort of patients with early inflammatory arthritis. The Journal of Rheumatology. 2014;41(12):2361-2369. DOI: <https://doi.org/10.3899/jrheum.140082>
View at: Publisher site: <https://www.jrheum.org/content/41/12/2361>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25274884/>
32. van der Helm-van Mil A.H., Verpoort KN, Breedveld FC, Toes REM, Huizinga TWJ. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2005;7(5):R949-958. DOI: 10.1186/ar1767
View at: Publisher site: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar1767>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16207336/>
33. Chung SW, Choi JY, Lee SH. Predicting Imaging Remission in Rheumatoid Arthritis: a Case-control Ultrasound Study. J Korean Med Sci. 2020; 35(31): e260. DOI: 10.3346/jkms.2020.35.e260
View at: Publisher site: <https://jkms.org/DOIx.php?id=10.3346/jkms.2020.35.e260>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32776721/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7416004/>
34. Katchamart W, Koolvisoot A, Aromdee, Chiowchanwesawakit P, Muengchan C. Associations of rheumatoid factor and anti-citrullinated peptide antibody with disease progression and treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol. Int. 2015; 35(10): 1693-1699. DOI: 10.1007/s00296-015-3271-8
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00296-015-3271-8>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25903353/>
PubMed Central:
35. Park Eun-Jung, Jeong WooSeong, Kim Jinseok. Prognostic Factors for Radiographic Progression in Patients with Seronegative Rheumatoid Arthritis. Journal of Personalized Medicine. 2021; 11(3): 184. DOI: 10.3390/jpm11030184
View at: Publisher site: <https://www.mdpi.com/2075-4426/11/3/184>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33807932/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8001159/>
36. Hecht C, Englbrecht M, Rech J, Schmidt S, Araujo E, Engelke K, Finzel S, Schett G. Additive effect of anti-citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor on bone erosions in patients with RA. Ann Rheum Dis. 2015;74:2151-6. DOI:10.1136/annrheumdis-2014-205428
View at: Publisher site: <https://ard.bmj.com/content/74/12/2151>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25115448/>

Article history
Received: 18.04.2021
Revision requested: 19.05.2021
Revision received: 31.05.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

АСОЦІАЦІЯ СЕРОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ С ЧАСТОТОЮ ДОСТИЖЕННЯ КЛІНІЧНОЇ І РЕНТГЕНОЛОГІЧНОЇ РЕМИСІЇ ПРИ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ

Яременко О.Б., Микитенко А.М.

Національний медичний університет імені А.А. Богомольця, Київ, Україна

o.b.iaremenko@gmail.com

Актуальність. Достигание ремиссии является одной из основных целей в лечении больных ревматоидным артритом (РА). Одним из определяющих предикторов течения заболевания, согласно литературных источников, является серологический вариант РА. Однако в научных публикациях встречаются противоречивые данные о связи наличия антител к циклическому цитруллинированному пептиду (аЦЦП) и/или ревматоидного фактора (РФ) и частоты, а также скорости наступления ремиссии. Нет в литературе и единого мнения относительно влияния титра серологических маркеров РА (аЦЦП и РФ) на возможность

достижения клинической и рентгенологической ремиссии на фоне базисного лечения, что побудило к проведению собственного исследования с целью изучения этого вопроса.

Цель: изучить взаимосвязь между наличием/отсутствием серологических маркеров РА (аЦЦП, РФ) и частотой и временем наступления клинической и рентгенологической ремиссии РА под влиянием лечения традиционными синтетическими базисными препаратами и проанализировать зависимость между титром АЦЦП и РФ и возможностью достижения ремиссии при РА.

Материалы и методы. В исследование было включено 128 пациентов. Анализ активности РА и оценку достижения ремиссии проводили через 6, 12 и 24 месяца лечения, используя шкалу активности DAS28 и динамику рентгенологических изменений по шкале Шарпа-ван дер Хейде.

Результаты. В течение 2-летнего наблюдения клиническая ремиссия наблюдалась в три раза чаще в группе больных, негативных по аЦЦП (в 36,1% в группе аЦЦП-РФ- по сравнению с 12,5% в группе аЦЦП+РФ+, $\chi^2 = 7,74$, $p < 0,05$; и в 33,3% в группе аЦЦП-РФ+, достоверная разница по сравнению с аЦЦП+ РФ+, $\chi^2 = 4,55$, $p < 0,05$). Ранняя ремиссия (в течение первых 6 месяцев лечения) также встречалась чаще в группе больных с отсутствием аЦЦП (соответственно, $\chi^2 = 10,7$, $p < 0,01$ и $\chi^2 = 6,69$, $p < 0,05$). Скорость наступления ремиссии (доля ранней в структуре общей) в четырех анализируемых группах достоверно не отличалась и составляла соответственно 75 %, 66,6 %, 66,6 % и 84,6 %. Титр АЦЦП в группе больных, достигших ремиссии, составил $240,8 \pm 38,5$ и достоверно не отличался от такового в группе больных, активность РА которых превышала порог ремиссии ($187,8 \pm 13,7$, $p > 0,05$). Также не было существенной разницы между этими двумя группами в титрах РФ: $257,9 \pm 233,8$ и $293,2 \pm 257,3$, соответственно. Рентгенологическая ремиссия достигалась у 46,7 % негативных по аЦЦП больных и лишь у 10,6% аЦЦП-позитивных ($p < 0,01$). Отсутствие в крови РФ также ассоциировалось с более частым достижением рентгенологической ремиссии (у 34,2% больных) по сравнению с РФ-положительной когортой больных (у 15,4%, $p < 0,05$)

Выводы. Установлено, что частота достижения клинической ремиссии, в том числе ранней (в течение первых 6 месяцев лечения), в три раза выше у больных РА, негативных по аЦЦП. Скорость наступления клинической ремиссии (соотношение ранней в структуре общей) не зависит от серологического варианта заболевания: около двух третей пациентов во всех анализируемых группах достигают ремиссии в первое полугодие базисной терапии. Титры основных серологических маркеров РА (аЦЦП и РФ) в дебюте заболевания не влияют на возможность достижения клинической и рентгенологической ремиссии. Рентгенологическая ремиссия наблюдается в три раза чаще у серонегативных (по аЦЦП или РФ) больных. Двойная серопозитивность имеет аддитивный эффект в отношении дальнейшей суставной деструкции.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, серологический вариант, клиническая ремиссия, рентгенологическая ремиссия, базисная терапия.

ASSOCIATION OF SEROLOGICAL STATUS WITH THE FREQUENCY OF CLINICAL AND RADIOLOGICAL REMISSION IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Iaremenko O.B., Mykytenko G.M.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

o.b.iaremenko@gmail.com

Relevance. Achieving remission is one of the main goals in the treatment of patients with rheumatoid arthritis (RA). One of the determining predictors of the disease, according to the literature, is the serological variant of RA. However, there are conflicting data in scientific publications on the relationship between the presence of antibodies to cyclic citrullinated peptide (ACCP) and / or rheumatoid factor (RF) and the frequency and rate of remission. There is no unanimous opinion in the literature on the influence of the titer of serological markers of RA (ACCP and RF) on the possibility of achieving remission on the background of basic treatment, which prompted to conduct their own research to study this issue.

Objective: to study the relationship between the presence / absence of serological markers of RA (ACCP, RF) and the frequency and timing of clinical and radiological remission of RA under the influence of treatment with traditional synthetic basic drugs and to analyze the relationship between ACCP and RF titers and the possibility of remission.

Material and methods. The study analyzed the influence of serological status of patients with RA on the possibility and time of remission while taking the main non-biological basic drugs. The relationship between the presence and level of ACCP and / or RF and clinical and radiological remission in RA has been studied. The study included 128 patients. Analysis of RA activity and assessment of remission were performed after 6, 12 and 24 months of treatment, using the DAS28 activity scale and the dynamics of radiological changes on the Sharpe-van der Heide scale.

Results. During the 2-year follow-up, clinical remission was observed three times more often in the group of patients negative for ACCP (*anti-cyclic citrullinated peptide*) (36.1% in the group ACCP-RF- compared with 12.5% in the group ACCP + RF (+, $\chi^2 = 7.74$, $p < 0.05$, and in 33.3% in the group ACCP-RF +, a significant difference compared with ACCP + RF +, $\chi^2 = 4.55$, $p < 0.05$). Early remission (during the first 6 months of treatment) was also more common in the group of patients with no ACCP ($\chi^2 = 10.7$, $p < 0.01$ and $\chi^2 = 6.69$, $p < 0.05$, respectively). The rate of remission (the share of early in the structure of the total) in the four analyzed groups did not differ significantly and was 75%, 66.6%, 66.6% and 84.6%, respectively. The titer of ACCP in the group of patients who achieved remission was 240.8 ± 38.5 and did not differ significantly from that in the group of patients whose RA (rheumatoid arthritis) activity exceeded the remission threshold (187.8 ± 13.7 , $p > 0.05$). There was also no significant difference between these two groups in the titers of the RF (rheumatoid factor): 257.9 ± 233.8 and 293.2 ± 257.3 , respectively. Radiological remission was achieved in 46.7% of ACCP-negative patients and only in 10.6% of ACCP-positive patients ($p < 0.01$). The absence of RF in the blood was also associated with a more frequent achievement of radiological remission (in 34.2% of patients) compared with the RF-positive cohort of patients (in 15.4%, $p < 0.05$).

Conclusions. It was found that the frequency of clinical remission, including early (during the first 6 months of treatment), is three times higher in patients with RA, negative for ACCP. The rate of clinical remission (ratio of early in the structure of the general) does not depend on the serological variant of the disease: about two thirds of patients in all analyzed groups achieve remission in the first half of basic therapy. Titers of the main serological markers of RA (ACCP and RF) in the onset of the disease do not affect the possibility of achieving clinical and radiological remission. Radiological remission is observed three times more often in seronegative (for ACCP or RF) patients. Double seropositivity has an additive effect on subsequent joint destruction.

Key words: rheumatoid arthritis, serological status, clinical remission, radiological remission, DMARD therapy.

АНАЛІЗ АСОЦІАЦІЇ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ з Arg16Gly ПОЛІМОРФНИМ ВАРІАНТОМ ГЕНА β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА

Качковська В.В. <https://orcid.org/0000-0002-9563-5425>

Приступа Л.Н. <https://orcid.org/0000-0002-6454-9831>

Сумський державний університет, Суми, Україна

vldy_dytko@ukr.net

Актуальність. Актуальність дослідження Arg16Gly поліморфізму гена β_2 -адренорецептора (β_2 -АР) зумовлена тим, що низкою досліджень доведено його роль у виникненні бронхіальної астми (БА), гіперактивності бронхів, ефективності базисного лікування. Проте дані асоціації демонструють низьку відтворюваність в різних дослідженнях, у зв'язку з чим питання про можливість клінічного застосування результатів генетичного тестування за Arg16Gly поліморфним варіантом гена β_2 -АР залишається без конкретної відповіді. Основними причинами, із-за яких клінічне значення даного поліморфізму не знаходить підтвердження у різних дослідженнях, є – гетерогенність популяції, недостатній обсяг виборок, неналежна характеристика груп порівняння.

Ціль: дослідження асоціації Arg16Gly поліморфізму гена β_2 -АР з тяжкістю перебігу БА з урахуванням віку дебюту.

Матеріал та методи. Обстежено 553 хворих на БА (I групу склали 282 хворих із пізнім дебютом астми, II – 271 хворих із раннім початком) та 95 практично здорових осіб. Дослідження було схвалено Комісією з питань біоетики медичного інституту Сумського державного університету. Визначення Arg16Gly поліморфізму гена β_2 -АР (rs1042713) проводили за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції з наступним аналізом рестрикційних фрагментів. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою SPSS-17 програми.

Результати. Встановлено відсутність відмінності у розподілі генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β_2 -АР залежно від тяжкості перебігу БА без урахування віку дебюту ($\chi^2 = 5,14$; $p = 0,27$). Аналіз з урахуванням віку дебюту показав, що за раннього дебюту БА наявна відмінність у розподілі генотипів за даним поліморфним варіантом між хворими із тяжким та нетяжким перебігом захворювання ($\chi^2 = 14,76$; $p = 0,001$). Частота Gly/Gly генотипу була вищою у хворих із тяжким перебігом (41,4 %) порівняно із нетяжким (16,4 %), а частота Arg/Arg (32,9 %) та Arg/Gly (50,7 %) генотипів була вищою у хворих із нетяжкою астмою порівняно із тяжкою (24,3 % і 34,3 %). Не встановлено відмінностей у розподілі генотипів у хворих із пізнім дебютом залежно від тяжкості перебігу ($\chi^2 = 4,94$; $p = 0,084$).

Встановлено зростання відносного ризику розвитку тяжкого перебігу БА із раннім дебютом: вищий у 3,84 рази (95% ДІ 2,11-7,36; $p = 0,001$) в рецесивній, у 2,58 рази (95% ДІ 1,53-4,37; $p = 0,001$) у домінантній та у 2,16 рази (95% ДІ 1,56-3,04) – в адитивній моделях. У хворих із пізнім дебютом БА не виявлено зв'язку у всіх моделях успадкування.

Висновки. Розподіл генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β_2 -АР залежно від тяжкості перебігу БА без урахування віку дебюту не відрізнявся. Урахування віку дебюту БА дозволило встановити відмінності у розподілі генотипів за даним поліморфним варіантом між хворими із тяжким та нетяжким перебігом захворювання за наявності ранньої астми ($p = 0,001$). Частота Gly/Gly генотипу була вищою у хворих із тяжким порівняно із нетяжким перебігом. За наявності пізньої БА відмінностей не встановлено ($p = 0,084$). Носійство алеля Gly у гетерозигот та гомозигот підвищує ризик розвитку БА лише із раннім дебютом.

Ключові слова: бронхіальна астма, дебют, тяжкість перебігу, Arg16Gly поліморфний варіант, β_2 -адренергічний рецептор

Актуальність. Відомо, що структура генетичних чинників бронхіальної астми (БА) залежно від віку її дебюту частково відрізняється. Дослідження загальногеномних асоціацій, які є специфічними для фенотипів ранньої та пізньої БА, дозволило продемонструвати 123 незалежні асоціації для астми із раннім дебютом та 56 – із пізнім, серед яких 37 частково співпадали [1, 2]. Диференційований підхід до вивчення геномних асоціацій з віком початку захворювання може допомогти в ідентифікації варіантів ризику виникнення певного фенотипу захворювання, що загалом допоможе зрозуміти відмінності у патофізіології між ранньою та пізньою БА, особливості клінічного перебігу та підходи до лікування.

Наш вибір щодо дослідження Arg16Gly поліморфізму гена β_2 -адренорецептора (β_2 -АР) зумовлений

тим, що низкою досліджень доведено його роль у виникненні БА, гіперактивності бронхів, ефективності базисного лікування. Проте дані асоціації демонструють низьку відтворюваність в різних дослідженнях, у зв'язку з чим питання про можливість клінічного застосування результатів генетичного тестування за Arg16Gly поліморфним варіантом гена β_2 -АР залишається без конкретної відповіді. Основними причинами, із-за яких клінічне значення даного поліморфізму не знаходить підтвердження у різних дослідженнях, є – гетерогенність популяції, недостатній обсяг виборок, неналежна характеристика груп порівняння [3,4].

Ціль: доповнення сучасних знань про роль генетичних чинників не лише у виникненні БА, а і про їх асоціацію з тяжкістю перебігу захворювання. Зважаючи на фенотипові відмінності хворих на БА, які

залежать від віку дебюту захворювання, ми провели аналіз можливої асоціації Arg16Gly поліморфізму гена β₂-АР з тяжкістю перебігу загалом у хворих на БА та з урахуванням віку її початку.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Обстежено 553 хворих на БА, які попередньо підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Контрольну групу склали 95 практично здорових осіб без наявності в індивідуальному та сімейному анамнезі симптомів БА або іншого бронхообструктивного захворювання, симптомів алергії та атопії. Діагноз БА, тяжкість перебігу, ступінь контролю встановлювали згідно із рекомендаціями GINA-2016 та її наступних версій та Наказу МОЗ України № 868 від 08.11.2013 р. Функцію зовнішнього дихання вивчали за допомогою діагностичного комплексу «Кардіоплюс» (Україна). Пацієнтів розподілено на дві клінічні групи залежно від віку дебюту БА. До I групи увійшло 282 хворих із пізнім дебютом астми (фенотип пізньої астми), до II групи – 271 хворий із раннім початком (фенотип ранньої астми). Дослідження було схвалено Комісією з питань біоетики медичного інституту Сумського державного університету. Визначення Arg16Gly поліморфізму гена β₂-АР (rs1042713) проводили за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції з наступним аналізом рестрикційних фрагментів. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою SPSS-17 програми. Для порівняння розподілу генотипів у дослідних групах застосовували χ²-критерій Пірсона. Для встановлення ризику розвитку БА розраховували відношення шансів (ВШ) та 95% довірчий інтервал (ДІ) для домінантної, рецесивної, наддомінантної та адитивної моделей успадкування. Їх релевантність оцінювали за допомогою інформаційного критерію Акайке. Всі тести були двобічними, значення P < 0,05 вважали статистично значущими

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами попередньо було визначено, що розподіл Arg/Arg, Arg/Gly, Gly/Gly генотипів за Arg16Gly полі-

морфізмом у групі контролю становив 44,2 %, 40,0 %, 15,8 % та 31,3; 45,7 та 23,0 %, відповідно, серед хворих на БА (χ² = 6,59; p = 0,037). Отримані результати дослідження частоти генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β₂-АР залежно від тяжкості перебігу БА наведені у таблиці 1.

Проведений аналіз розподілу генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β₂-АР залежно від тяжкості перебігу БА продемонстрував відсутність статистично вірогідної відмінності (p=0,27). Це стало підставою для подальшого статистичного аналізу для дослідження асоціації даного поліморфного варіанту гена β₂-АР із тяжкістю перебігу БА у хворих залежно від часу дебюту. Результати проведеного аналізу частоти генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β₂-АР залежно від тяжкості перебігу БА у хворих із раннім та пізнім її дебютом наведено у табл. 2.

Аналіз розподілу генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β₂-АР залежно від тяжкості перебігу засвідчив наявність вірогідної відмінності між хворими на тяжку та нетяжку БА із раннім дебютом (p = 0,001). Показано, що частота Gly/Gly генотипу була вищою у хворих із тяжким перебігом (41,4 %) порівняно із нетяжким (16,4 %), а частота Arg/Arg (32,9 %) та Arg/Gly (50,7 %) генотипів була вищою у хворих із нетяжкою астмою порівняно із тяжкою (24,3 % і 34,3 %). Поряд із цим, не встановлено вірогідних відмінностей у розподілі генотипів у хворих із пізнім дебютом залежно від тяжкості перебігу (p = 0,084). Проте, частота носіїв гомозигот за основним алелем за нетяжкого перебігу була вищою порівняно із тяжким, а гетерозигот та гомозигот за мінорним алелем вища за наявності тяжкого перебігу астми на рівні тенденції.

Для підтвердження зв'язку Arg16Gly поліморфізму гена β₂-АР із тяжкістю перебігу астми проведено визначення відносного ризику розвитку тяжкого перебігу БА із раннім та пізнім дебютом залежно від генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β₂-АР (табл. 3).

Розрахунок відносного ризику у рамках адитивної моделі (носійство алеля Gly16 – гетерозиготи та гомозиготи за мінорним алелем) порівняно із гомозиготами за основним алелем підвищує ризик

Таблиця 1

Розподіл генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β₂-адренергічного рецептора залежно від тяжкості перебігу бронхіальної астми

rs 1042713 Генотипи	Перебіг бронхіальної астми					
	Легкий, n = 88		Середньої тяжкості, n = 175		Тяжкий, n = 290	
	N	%	n	%	n	%
Arg/Arg	32	36,4	44	25,1	97	33,4
Arg/Gly	39	44,3	88	50,3	126	43,4
Gly/Gly	17	19,3	43	24,6	67	23,2
χ ² = 5,14; p = 0,27						

Таблиця 2

Частота генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β_2 -адренергічного рецептора у хворих на бронхіальну астму залежно від віку дебюту та тяжкості перебігу

rs 1042713 Генотипи:	Ранній дебют			
	Нетяжкий перебіг, n = 73		Тяжкий перебіг БА, n = 198	
	n	%	n	%
Arg/Arg	24	32,9	48	24,3
Arg/Gly	37	50,7	68	34,3
Gly/Gly	12	16,4	82	41,4
$\chi^2 = 14,76; p = 0,001$				
rs 1042713 Генотипи	Пізній дебют			
	Нетяжкий перебіг, n = 191		Тяжкий перебіг, n = 91	
	n	%	n	%
Arg/Arg	73	38,2	28	30,8
Arg/Gly	101	52,9	47	61,6
Gly/Gly	17	8,9	16	17,6

Таблиця 3

Ризик розвитку тяжкого перебігу бронхіальної астми залежно генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β_2 -адренергічного рецептора та віку дебюту

Ранній дебют			
Модель	P _{спост}	ВШ _{спост} (95 % ДІ)	ІКА
Домінантна	0,001	2,58 (1,53 – 4,37)	25,6
Рецесивна	0,001	3,84 (2,11 – 7,36)	21,16
Наддомінантна	0,38	0,8 (0,48 – 1,32)	41,5
Аддитивна	0,001	2,16 (1,56 – 3,04)	19,72
Пізній дебют			
Домінантна	0,06	1,78 (0,98 – 3,28)	17,58
Рецесивна	0,74	1,14 (0,52 – 2,48)	21,07
Наддомінантна	0,11	1,6 (0,9 – 2,88)	18,63
Аддитивна	0,14	1,36 (0,9 – 2,06)	19,01

розвитку тяжкого перебігу БА із раннім дебютом в 2,16 рази ($p = 0,001$). За наявності рецесивної моделі (носіїство алеля Gly16 – гомозиготи за мінорним алелем) порівняно із гомозиготами за основним алелем підвищений ризик розвитку БА із раннім дебютом у 3,84 рази ($p = 0,001$). При порівнянні гомозигот за основним алелем та носіїв рецесивного алеля (гетерозиготи та гомозиготи) були виявлено достовірне підвищення ризику розвитку тяжкого перебігу у 2,58 рази ($p = 0,001$). Аналіз отриманих результатів у хворих на БА із пізнім дебютом захворювання показує відсутність зв'язку у всіх моделях успадкування.

Відомо, що фенотипування БА ґрунтувалося в основному на клінічних змінних, однак, ідентифікація клінічних фенотипів допомогла виявити генетичну гетерогенність захворювання [5]. Передбачають, що загальні генетичні чинники і, відповідно, загальні механізми беруть участь у формуванні певних фенотипів за-

хворювання, зокрема, клінічних особливостей перебігу та його тяжкості. Тому метою нашого дослідження був аналіз можливої асоціації Arg16Gly поліморфізму гена β_2 -АР з тяжкістю перебігу загалом у хворих на БА та з урахуванням фенотипу ранньої та пізньої БА. Отримані результати демонструють не лише вищу частоту Gly/Gly генотипу у хворих із раннім дебютом порівняно із хворими із пізнім дебютом БА, а і вірогідне підвищення ризику розвитку ранньої астми у рамках рецесивної, адитивної та домінантної моделей успадкування. Таким чином, носійство Gly алеля, як у гетерозигот, так і у гомозигот, асоційоване із підвищенням ризику розвитку ранньої БА на протигагу пізній БА, і асоційоване із тяжким перебігом ранньої БА.

Отримані нами результати частково узгоджуються із даними інших досліджень. Так, результати більшості попередніх досліджень не показали зв'язку Arg16Gly поліморфізму гена β_2 -АР із БА у різних етнічних групах [6, 7, 8], але довели асоціацію

з окремими фенотипами БА [7, 9]. У дослідженні Contopoulos-Ioannidis D.G. (2005) доведено в роботі Національного, що алель Gly16 не сприяв виникненню БГР та схильності до БА в цілому, проте був асоційований із нічною БА (ВШ 2,20; 95 % ДІ 1,56–3,11) і з тяжкою БА (ВШ 1,42; 95 % ДІ 1,04–1,94). При цьому повідомляється, що Gly16 гомозиготи мали вищий ризик нічної астми у 5,15 рази (95 % ДІ 2,44–10,84) і у 2,84 рази астми із тяжким перебігом (95 % ДІ 1,62–4,96) порівняно із Arg16 гомозиготами [7]. Цей зв'язок 16Gly алеля із тяжкою та нічною астмою підтверджено також у мексиканців, сиканцев, у тайваньців и индивидов європейско- тайванців і європеїдівго походження, проживаючих в США, с тяжє-, які проживають у США, у європеїдів із Нової Зеландії [11, 15–19]. [9, 10, 11]. Результати, отримані у нашому дослідженні, також демонструють зростання ризику розвитку тяжкої БА із раннім дебютом. Дослідження, проведене у білоруській популяції, доводить зростання ризику atopічних захворювань у носіїв алеля 16Gly поліморфного варіанту Arg16Gly гена β_2 -АР [12]. Підтвердженням ролі 16Gly алеля у розвитку алергопатології є результати дослідження у російській популяції, які показали, що носійство Gly16Gly генотипу за даним поліморфізмом у хворих на БА підвищувало ризик еозинофілії периферичної крові та сприяло формуванню фенотипу atopічного захворювання [13]. Асоціація 16Gly алеля із вмістом еозинофілів периферичної крові у даному дослідженні може частково пояснити отримані нами результати щодо підвищення ризику розвитку БА із раннім дебютом у гомозигот за мінорним алелем порівняно із гомозиготами за основним алелем, оскільки для ранньої астми є характерним переважно еозинофільний тип запалення дихальних шляхів [14]. Таким чином, носійство Gly алеля, як в гетерозигот, так і в гомозигот, вірогідно підвищує відносний ризик розвитку алергічного запалення та ранньої БА на протигагу пізній БА. Поясненням цьому можуть бути результати дослідження UK Biobank, яке показало, що однонуклеотидні поліморфізми, які впливають на молекулярні механізми, що лежать в основі алергії, пояснюють вищий ризик виникнення ранньої астми порівняно із пізньою [1]. Тому поглиблене вивчення механізмів патогенезу та генетичних чинників, що зумовлюють виникнення захворювання у дорослих і дітей, та їх зв'язку із тяжкістю перебігу допоможе розробити нові стратегії прогнозування виникнення астми, тяжкості її перебігу, лікування та профілактики.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено відсутність відмінності у розподілі генотипів за Arg16Gly поліморфізмом гена β_2 -АР залежно від тяжкості перебігу БА без урахування віку дебюту ($p = 0,27$).

2. За наявності раннього дебюту БА засвідчено наявність відмінності між хворими на тяжку та нетяжку БА у розподілі генотипів за даним поліморфним варіантом ($p = 0,001$). Частота Gly/Gly генотипу була вищою у хворих із тяжким перебігом (41,4 %) порівняно із нетяжким (16,4 %), а частота Arg/Arg (32,9 %) та Arg/Gly (50,7 %) генотипів була вищою у хворих із нетяжкою астмою порівняно із тяжкою (24,3 % і 34,3 %). Не встановлено відмінностей у розподілі генотипів у хворих із пізнім дебютом залежно від тяжкості перебігу ($p = 0,084$).

3. Відносний ризик розвитку тяжкого перебігу БА із раннім дебютом вищий у 3,84 рази в рецесивній, у 2,58 рази – у доміантній та у 2,16 рази – в адитивній моделі. У хворих із пізнім дебютом БА встановлено відсутність зв'язку у всіх моделях успадкування.

У авторів дослідження немає конфлікту інтересів, дослідження фінансувалось за власний кошт.

REFERENCES

1. Ferreira MA, Mathur R, Vonk JM, Szwajda A, Brumpton B. et al. Genetic Architectures of Childhood and Adult Onset Asthma Are Partly Distinct. *Am J Hum Genet.* 2019;104(4):665–684. DOI: 10.1016/j.ajhg.2019.02.022 View at: Publisher site: [https://www.cell.com/ajhg/fulltext/S0002-9297\(19\)30067-9](https://www.cell.com/ajhg/fulltext/S0002-9297(19)30067-9) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30929738/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6451732/>
2. Yates AD, Achuthan P, Akanni W, Allen J, Alvarez-Jarreta J. et al. Ensembl 2020. *Nucleic Acids Res.* 2020;8(48):D682–D688. DOI: 10.1093/nar/gkz966 View at: Publisher site: <https://academic.oup.com/nar/article/48/D1/D682/5613682> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31691826/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7145704/>
3. Slob EM, Vijverberg SJ, Palmer CN. et al. Pharmacogenetics of inhaled long-acting beta2-agonists in asthma: a systematic review. *Pediatric Allergy and Immunology.* 2018;29(7):705–14. DOI: 10.1111/pai.12956 View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pai.12956> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29992699/>
4. Zhang E, Levin AM, Williams LK. How does race and ethnicity effect the precision treatment of asthma? *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development.* Taylor & Francis. 2019;4(6):337–56. DOI: 10.1080/23808993.2019.1690396 View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/23808993.2019.1690396> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33015363/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7531627/>
5. Siroux V, González JR, Bouzigon E. et al. Genetic heterogeneity of asthma phenotypes identified by a clustering approach. *European Re-*

- spiratory Journal. 2014;43(2):439-452. DOI: 10.1183/09031936.00032713
View at: Publisher site: <https://erj.ersjournals.com/content/43/2/439>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24311777/>
6. Liang SQ, Chen XL, Deng JM, Wei X, Gong C, Chen ZR, et al. Beta-2 adrenergic receptor (ADRB2) gene polymorphisms and the risk of asthma: a meta-analysis of case-control studies. *PLoS One*. 2014;9(8):1054-1058. DOI: 10.1371/journal.pone.0104488.
View at: Publisher site: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104488>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25111792/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4128804/>
 7. Contopoulos-Ioannidis DG, Manoli EN, Ioannidis JP. Meta-analysis of the association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with asthma phenotypes. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(5):963-72. DOI: 10.1016/j.jaci.2004.12.1119
View at: Publisher site: [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(05\)00011-4/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(05)00011-4/fulltext)
PubMed Central: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15867853/>
 8. Guo X., Zheng H., Mao C., Guan E, Si H. An association and meta-analysis study of 4 SNPs from beta-2 adrenergic receptor (ADRB2) gene with risk of asthma in children. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2016;34(1):11-20. DOI: 10.12932/AP0597.34.1.2016
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26994621/>
 9. Turner S., Francis B, Vijverberg S, Pino-Yanes M. et al. Pharmacogenomics in Childhood Asthma Consortium. Childhood asthma exacerbations and the Arg16 β 2-receptor polymorphism: A meta-analysis stratified by treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(1):107-113. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.10.045
View at: Publisher site: [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(15\)01734-0/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(15)01734-0/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26774659/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4931969/>
 10. Holloway JW, Dunbar PR, Riley GA, Sawyer G M, Fitzharris PF, Pearce N, Gros GSL, Beasley R. Association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with severe asthma. *Clin Exp Allergy*. 2000;30(8):1097-1103. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2000.00929.x
View at Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2222.2000.00929.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10931116/>
 11. Santillan AA, Camargo CA, Ramirez-Rivera A, et al. Association between b2-adrenoceptor polymorphisms and asthma diagnosis among Mexican adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:1095-1100. DOI: 10.1016/j.jaci.2003.09.029
View at: Publisher site: [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(03\)02366-2/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(03)02366-2/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14657864/>
 12. Chakova NN., Volovyk NO., Nyiazova SS., Belyaeva L.M., Mikulchik N.V., Buza D.V., Mytko Yu.A. [The role of polymorphic loci Arg16Gly and Gln27Glu of the Adrb2 gene in the pathogenesis of atopic diseases in children of Belarus]. *Ymmunopatohyia, Allerholohyia, Ynfektolohyia*. 2017;3:30-35. [in Russian].
View at: Publisher site: <http://www.immunopathology.com/ru/article.php?carticle=863>
Elibrary: <https://elibrary.ru/item.asp?id=32423895>
 13. Myronova ZhA., Trofymov VY., Yanchyna ED., Dubina M.V., Ulitina A.S. [Association of beta2-adrenergic receptor gene variants (ADRB2) and bronchial asthma]. *Problemy klynycheskoi medytsyny*. 2009;1(19):58-61. [in Russian].
View at: Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/assotsiatsiya-allelnyh-variantov-gln27glu-gena-beta2-adrenoretseptora-adrb2-s-bronhialnoy-astmoy-v-zavisimosti-ot-stepeni-tyazhesti>
 14. Azim A, Freeman A, Lavenu A., Mistry H, Haitchi HM, Newell C, Cheng Y, Thirlwall Y, Harvey M, Barber C, Pontoppidan K, Dennison P, Arshad H, Djukanovic R, Howarth P, Kurukulaaratchy RJ. New perspectives on difficult asthma: sex and age of asthma-onset based phenotypes. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8(10):3396-3406.e4. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.05.053
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213219820305948?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32544545/>

Article history

Received: 23.03.2021

Revision requested: 19.04.2021

Revision received: 01.06.2021

Accepted: 24.06.2021

Published: 30.06.2021

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ С Arg16Gly ПОЛИМОРФНЫМ ВАРИАНТОМ ГЕНА β 2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА

Качковская В.В., Приступа Л.Н.

Сумской государственной университет, Сумы, Украина

vldy_dytko@ukr.net

Актуальность. Актуальность исследования Arg16Gly полиморфизма гена β 2-адренорецепторов (β 2-АР) обусловлена тем, что рядом исследований доказана его роль в возникновении бронхиальной астмы (БА), гиперактивности бронхов, эффективности базисного лечения. Однако данные ассоциации демонстрируют низкую воспроизводимость в различных исследованиях, в связи с чем вопрос о возможности клинического применения результатов генетического тестирования по Arg16Gly полиморфному варианту гена β 2-АР остается без конкретного ответа. Основными причинами, из-за которых клиническое значение данного полиморфизма не находит подтверждения в различных исследованиях, это гетерогенность популяции, недостаточный объем выборок, ненадлежащая характеристика групп сравнения.

Цель: исследование ассоциации Arg16Gly полиморфизма гена β 2-АР с тяжестью течения БА с учетом возраста дебюта.

Материал и методы. Обследовано 553 больных БА (I группу составили 282 пациентов с поздним дебютом астмы, II – 271 пациент с ранним началом) и 95 практически здоровых лиц. Исследование было одобрено Комиссией по вопросам биоэтики медицинского института Сумского Государственного университета. Определение Arg16Gly полиморфизма гена β 2-АР (rs1042713) проводили с помощью полимеразной цепной реакции с последующим анализом рестрикционных фрагментов. Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью SPSS-17 программы.

Результаты. Установлено отсутствие различия в распределении генотипов по Arg16Gly полиморфизмом гена β 2-АР в зависимости от тяжести течения БА без учета возраста дебюта ($\chi^2 = 5,14$; $p = 0,27$). Анализ с учетом возраста дебюта показал, что при раннем дебюте БА имеется различия в распределении генотипов по данным полиморфным вариантам между больными с тяжелым и нетяжелым течением заболевания ($\chi^2 = 14,76$; $p = 0,001$). Частота Gly / Gly генотипа была выше у больных с тяжелым течением (41,4%) по сравнению с нетяжелым (16,4%), а частота Arg / Arg (32,9%) и Arg / Gly (50,7%) генотипов была выше у больных с нетяжелым течением по сравнению с тяжелой (24,3% и 34,3%). Не установлено различий в распределении генотипов у больных с поздним дебютом в зависимости от тяжести течения ($\chi^2 = 4,94$; $p = 0,084$).

Установлен рост риска развития тяжелого течения БА с ранним дебютом – выше в 3,84 раза (95% ДИ 2,11-7,36; $p = 0,001$) в рецессивной, в 2,58 раза (95% ДИ 1,53-4,37; $p = 0,001$) в доминантной и в 2,16 раза (95% ДИ (1,56-3,04) – в аддитивной модели. У больных с поздним дебютом БА не выявлено связи во всех моделях наследования.

Выводы. Распределение генотипов по Arg16Gly полиморфизмам гена β 2-АР в зависимости от тяжести течения БА без учета возраста дебюта не отличался. Учет возраста дебюта БА позволил установить различия в распределении генотипов по данным полиморфным вариантам между больными с тяжелым и нетяжелым течением заболевания при наличии ранней астмы ($p = 0,001$). Частота Gly / Gly генотипа была выше у больных с тяжелым по сравнению с нетяжелым течением. При наличии поздней БА различий не установлено ($p = 0,084$). Носительство аллеля Gly среди гетерозигот и гомозигот повышает риск развития БА только с ранним дебютом.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дебют, тяжесть течения, Arg16Gly полиморфный вариант, β 2-адренорецепторов

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF BRONCHIAL ASTHMA CLINICAL COURSE WITH Arg16Gly POLYMORPHIC VARIANT IN THE β 2-ADRENOCEPTOR GENE

Kachkovska V.V., Prystupa L.N.

Sumy State University, Sumy, Ukraine

vldy_dytko@ukr.net

Relevance. The relevance of the study of Arg16Gly polymorphism of the β 2-adrenoceptor (β 2-AR) gene is due to the fact that a number of studies have proven its role in the development of bronchial asthma (BA), bronchial hyperactivity, the effectiveness of basic treatment. However, these associations show low reproducibility in various studies, so the question of the possibility of clinical application of the results of genetic testing for Arg16Gly polymorphic variant of the β 2-AR gene remains unanswered. The main reasons why the clinical significance of this polymorphism is not confirmed in various studies are - population heterogeneity, insufficient sample size, improper characterization of comparison groups.

Objective: to study the association of Arg16Gly polymorphism in the β 2-adrenoceptor gene with BA clinical course taking into account the age of onset.

Materials and methods. We examined 553 BA patients (group I included 282 patients with late-onset asthma and group II included 271 patients with early-onset asthma) and 95 apparently healthy individuals. The study has been approved by the Bioethics Committee of Medical Institute of Sumy State University. Arg16Gly polymorphism in the β 2-AR gene (rs1042713) was determined using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis. Statistical analysis of obtained results was performed using SPSS-17 program.

Results. There was no significant difference in the distribution of genotypes for Arg16Gly polymorphism in the β 2-AR gene depending on asthma severity with no regard for the age of onset ($\chi^2 = 5.14$; $p = 0.27$). With regard for the age of onset, we found out that

early-onset BA was linked to a difference in genotype distribution for this polymorphic variant in patients with severe and non-severe course ($\chi^2 = 14.76$; $p = 0.001$). The frequency of Gly/Gly genotype was higher in patients with severe course (41.4%) as compared to patients with mild course (16.4%), while the frequency of Arg/Arg (32.9%) and Arg/Gly (50.7%) genotypes was higher in patients with mild asthma as compared to patients with severe course (24.3% and 34.3%). There was no significant difference in the distribution of genotypes in patients with late-onset asthma with regard to course severity ($\chi^2 = 4.94$; $p = 0.084$).

The relative risk of severe course for early-onset asthma was 3.84 times higher (95% CI 2.11–7.36; $p = 0.001$) in the recessive model, 2.58 times higher (95% CI 1.53–4.37, $p = 0.001$) in the dominant model, and 2.16 times (95% CI 1.56–3.04) higher in the additive model. In patients with late-onset asthma, no association was found in all models.

Conclusions. There was no significant difference in the distribution of genotypes for Arg16Gly polymorphism in the β 2-AR gene depending on asthma severity with no regard for the age of onset. When adjusted for the age of onset, the analysis revealed a difference in genotype distribution for this polymorphic variant in patients with severe and non-severe course having early-onset BA ($p = 0.001$). The frequency of Gly/Gly genotype was higher in patients with severe course as compared to patients with mild course. For patients with late-onset asthma, no differences were found ($p = 0.084$). Heterozygous and homozygous Gly allele carriers have a higher risk of early-onset asthma only.

Keywords: bronchial asthma, onset, course severity, Arg16Gly polymorphism, β 2-adrenoceptor

ГІПЕРКРІОГЛОБУЛІНЕМІЯ ЯК ПАТОФІЗІОЛОГІЧНА ЛАНКА РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ ПРИ РАКУ ШЛУНКА

¹Багмут І.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-7543-9750>

²Мовчан О.В. <https://orcid.org/0000-0002-2874-8841>

³Грамотюк С.М. <https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>

¹Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків, Україна

²Національний інститут раку, Київ, Україна

³Асоціація біобанків України, Харків, Україна

aleexeymed@gmail.com

Актуальність. Важливим питанням є прогнозування розвитку ускладнень після проведення оперативних втручань з приводу раку шлунка. Найбільш грізним є неспроможність швів гастроентероанастомозів, що в більшості випадків призводить до летальності. Тому є актуальним пошук факторів та маркерів прогнозу розвитку цих ускладнень. Одними з основних маркерів, які потребують вивчення, є фактори та маркери запалення.

Ціль: з'ясувати патофізіологічні закономірності розвитку запалення та неспроможності швів гастроентероанастомозів у пацієнтів, оперованих з приводу раку шлунка, в залежності від рівня кріоглобулінемії.

Матеріали та методи. Проведено аналіз безпосередніх результатів лікування 50 хворих, яким в період 2013-2017 рр. виконувалося оперативне лікування в обсязі дистальної субтотальної резекції шлунка з формуванням гастроентероанастомозів внутрішньочеревною лімфодисекцією, в обсязі D2. Визначення кріоглобулінів із сироватки крові проводили за методом Kalovidoris з модифікаціями. Проведено оцінку кількості Т-лімфоцитів (CD3), і серед них прицільно – Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD8), а також CD4 та CD16 у сироватці хворих на рак шлунка в післяопераційному періоді.

Результати. У 6 хворих на фоні неспроможності швів гастроентероанастомозів вимагалось виконання релапаротомії. Динамічний моніторинг кріоглобулінемії протягом всього післяопераційного періоду у пацієнтів з раком шлунка виявив неадекватність змін їх концентрації в сироватці крові в залежності від часу спостереження. У периферичній крові хворих з кріоглобулінемією відзначається достовірне зниження числа CD3+ ($66,2 \pm 0,5\%$, $p < 0,05$).

Висновки. У хворих з кріоглобулінемією, оперованих з приводу раку шлунка, формується вторинна імунна недостатність. Рівень кріоглобулінів в сироватці крові може бути маркером прогнозу розвитку ускладнень в післяопераційному періоді у хворих на рак шлунка.

Ключові слова: кріоглобулінемія, рак шлунка, неспроможність швів гастроентероанастомозів.

Актуальність. Важливим питанням залишається прогнозування розвитку ускладнень після проведення оперативних втручань з приводу раку шлунка. З усього різноманіття розладів після резекції шлунка найбільш грізним є неспроможність швів гастроентероанастомозів з розвитком перитониту, що в більшості випадків призводить до летальних ісходів [1, 2, 7].

За даними різних авторів, процент неспроможності швів анастомозів після радикальних операцій з приводу раку шлунка коливається від 4 до 20 % [1, 2, 5, 7].

Тому науковим співтовариством проводиться пошук факторів та маркерів прогнозу розвитку цих ускладнень. На нашу думку, одними з основних маркерів, які потребують вивчення в даному випадку, є фактори та маркери запалення [2].

Ціль: з'ясувати патофізіологічні закономірності розвитку запалення та, як наслідок, неспроможності швів гастроентероанастомозів у пацієнтів, оперованих з приводу раку шлунка в залежності від рівня кріоглобулінемії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При вивченні даного питання проведено аналіз безпосередніх результатів лікування 50 хворих, яким оперативне лікування виконувалося в обсязі дистальної субтотальної резекції шлунка з формуванням гастроентероанастомозів з внутрішньочеревною лімфодисекцією, в обсязі D2, за запропонованою методикою (Патент на Винахід України №119120 від 25.04.2019) в період з 2013 по 2017 роки. Розподіл хворих в залежності від стадії – T2-3 N0 M0 – 17,5 %, T2-3 N1-2 M0 – 73,2 %, T4 N1-2 M0 – 9,3 %. У всіх хворих морфологічно була верифікована аденокарцинома. Також представлено групу порівняння з 46 хворих, без наявної кріоглобулінемії.

У всіх пацієнтів, які мали післяопераційні ускладнення (неспроможність анастомозу, перитоніт і нехірургічні ускладнення), та у тих хворих, що таких не мали, провели дослідження стану метаболічних моніторингових показників. Це зумовлено тим, що попередні дані не виявили вірогідної різниці поміж групами з інтраопераційними ускладненнями поміж

собою, $p \geq 0,05$, та не виявлено вірогідної різниці і у групах без інтраопераційних ускладнень поміж собою. Тому, для подальшого дослідження стану хворих ми виділили дві групи пацієнтів: з наявністю кріоглобулінемії та без неї.

Проводили визначення кріоглобулінів, тобто імуноглобулінів сироватки крові, які зворотньо преципітують при температурі нижче 37°C . Виділення кріоглобулінів із сироватки крові проводили за методом А.Е. Kalovidoris з модифікаціями. Концентрація кріоглобулінів оцінювалася спектрофотометрично на спектрофотометрі СФ-46 в динаміці на 3, 5 та 7 добу (найкритичніші дні в плані розвитку ускладнень). Контрольні показники кріоглобулінів у сироватці крові було досліджено у 25 практично здорових пацієнтів (без онкопатології та без оперативних втручань), вони дорівнювали від 60 до 80 мг/л, що відповідало показникам норми, отриманим в роботах Ferris С., Zignego А.І.

У межах даної роботи було проведено оцінку кількості Т-лімфоцитів (CD3), і серед них прицільно – Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD8), а також CD4 та CD16 у сироватці хворих на рак шлунка в післяопераційному періоді в обох групах (з ускладненнями та без них). Крім того, для оцінки ефекторних клітин гуморального імунітету було проведено оцінку кількості та розподілу плазматичних клітин (CD138). Маркери імунокомпетентних клітин, що входять до складу пухлинного мікрооточення: CD3 маркер Т-лімфоцитів DAKO, поліклональний CD8 маркер Т-цитотоксичних лімфоцитів DAKO, клон С8/144В CD138, маркер плазмоцитів (syndecan-1, клон М115), CD4 маркер DAKO, клон КР1 CD16 Cell Marque, клон MRQ-26 та В-лімфоцити.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ускладнення після радикальних втручань спостерігалися у 20 пацієнтів. При цьому у 6 хворих на фоні неспроможності швів гастроентероанастомозів вимагалось виконання релапаротомії, з них 2 пацієнтам повторні операції виконувалися двічі. У інших хворих явища післяопераційних ускладнень куповані в результаті заходів консервативної терапії (у цих хворих ускладнення були, як правило, пов'язані з проблемами з боку серцево-судинної системи, враховуючи середній вік пацієнтів – 67 років).

Формування абсцесів черевної порожнини діагностовано у тих же 6 (8,8 %) пацієнтів на фоні неспроможності швів гастроентероанастомозів. Всім хворим виконані оперативні втручання, що супроводжувалися санацією та дрениванням абсцесів, та призначенням антибіотиків, до яких була встановлена чутливість.

Структура загальних післяопераційних ускладнень

Ускладнення	Кількість ускладнень, n=50	
	абс. число	%
Неспроможність швів анастомозу	6	8,8
Пневмонія	3	4,4
Аритмії	5	1
Серцева недостатність	2	0,5
Інші	3	3,3
Усього	20	40

У всіх обстежених хворих на рак шлунка з післяопераційними ускладненнями була виявлена гіперкріоглобулінемія. У 28 хворих (55 %) вміст кріоглобулінів (КГ) був середнім ($298,6 \pm 2,5$ мг/л; $1,3 \pm 0,08$ %), що відповідає II типу кріоглобулінемії (КГЕ). 15 хворих (29 %) були із сумнівною КГЕ – $79,4 \pm 1,01$ мг/л. Високий вміст КГ ($477,3 \pm 48$ мг/л; $3,4 \pm 0,2$ %) було зареєстровано у 7 хворих (14 %). Цей розподіл представлений на рисунку 1.

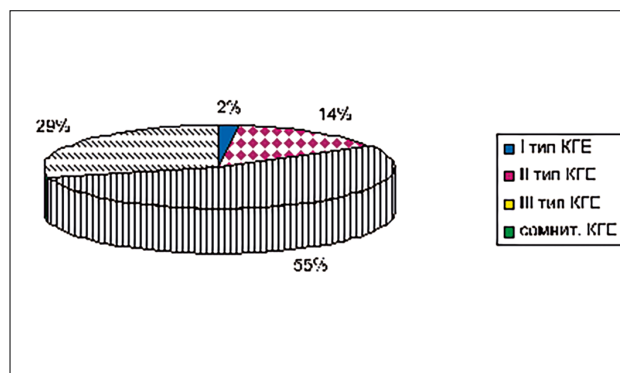


Рис. 1. Тип кріоглобулінемії (КГЕ) у хворих на рак шлунка, в залежності від різного вмісту кріоглобулінів

У результаті дослідження встановлено, що у всіх хворих є достовірне підвищення рівнів кріоглобулінів в середньому на 106,5% в першу добу від моменту надходження до стаціонару.

Ми бачимо, що у другій групі (з неспроможністю швів анастомозів) показники кріоглобулінів є вищими за весь період спостереження, тобто рівень кріоглобулінів в сироватці крові може бути маркером прогнозу розвитку ускладнень в післяопераційному періоді у хворих на рак шлунка. Нами вперше було досліджено у вмісті кріопреципітатів хворих на рак шлунка концентрацію імуноглобулінів класів G і M, а також імуноглобулінів класу А. Динамічне вивчення вмісту кріокомплексів при раку шлунка встановило зниження концентрацій IgG та IgM, що, згідно з імунологічною концепцією патогенезу раку, пов'язано з фіксацією кріоглобулінів в мікроциркуляторному руслі з проявами аутоімунної агресії по відношенню

до епітелію кишки. На 7-му добу захворювання було встановлено підвищення вмісту IgG на 4,3 % та достовірне ($p < 0,05$) збільшення IgM на 19,4 % по відношенню до початкового рівня. В окремих випадках збільшення концентрації IgG та IgM по відношенню до їх початкового рівня відбувалось вже у 3-ю або 5-у добу спостереження (рис. 2).

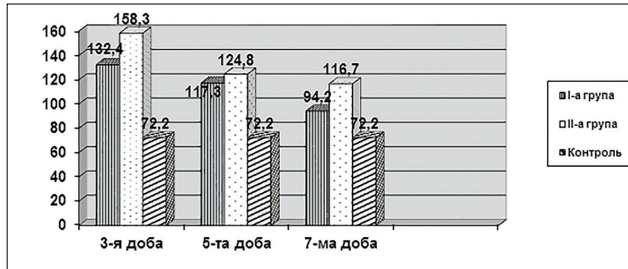


Рис.2. Динаміка вмісту імуноглобулінів у криопрециптатах хворих на рак шлунка

Динамічний моніторинг кріоглобулінемії протягом всього післяопераційного періоду у пацієнтів з раком шлунка виявив неадекватність змін їх концентрації в сироватці крові в залежності від часу спостереження (рис. 2). На 5-у добу спостерігалось зниження концентрації кріобілків в крові хворих з $158,3 \pm 28,6$ мг/л до $124,8 \pm 10,8$ мг/л у 2-й групі хворих на рак шлунка і з $132,4 \pm 82,2$ мг/л до $117,3 \pm 63,9$ мг/л – у 1-й групі.

У периферичній крові хворих з кріоглобулінемією, оперованих з приводу раку шлунка, відзначається достовірне зниження відносного числа CD3+ по відношенню до групи порівняння ($66,2 \pm 0,5\%$, $p < 0,05$). Результати дослідження субпопуляцій лімфоцитів представлені в таблиці 2.

Рівень CD 4+ та CD 8+ був також значно знижений порівняно з групою порівняння ($p < 0,05$).

Крім того, відзначено достовірне ($p < 0,05$), підвищення рівня NK-клітин, що, можливо, пов'язано з порушенням бар'єрної функції слизової оболонки кишечника і проникненням в підслизовий шар антигенів кишкової флори.

При визначенні рівня CD20+ виявлено практично дворазове збільшення даного показника відносно групи порівняння: так, у пацієнтів з кріоглобулінемією цей показник склав ($27,4 \pm 0,27\%$) ($p < 0,05$).

У хворих основної групи, оперованих з приводу раку шлунка, відзначено збільшення рівня Ig A у 2 рази ($5,11 \pm 0,07$ г/л) при нормальному показнику $2,5 \pm 0,08$ г/л, це пов'язано з тим, що імуноглобуліни класу IgA є «першою лінією оборони організму» на слизових оболонках шлунково-кишкового тракту. При дослідженні рівня імуноглобулінів класів IgM і IgG встановлено достовірно ($p < 0,05$) значущі відхилення від нормальних показників.

ВИСНОВКИ

Таким чином, у хворих з кріоглобулінемією, оперованих з приводу раку шлунка пухлинного генезу, формується вторинна імунна недостатність. Це визначається відхиленнями в системі клітинного та гуморального імунітету, та, як наслідок, неспроможністю швів гастроентероанастомозів.

У хворих з неспроможністю швів анастомозів показники кріоглобулінів є вищими за весь період спостереження. Отже, рівень кріоглобулінів в сиро-

Таблиця 2

Динаміка вмісту субпопуляцій лімфоцитів у хворих на рак шлунка в ранньому післяопераційному періоді

Показники	Контрольні значення (n=25)	Основна група – з кріоглобулінемією (n=50)	Група порівняння – без кріоглобулінемії (n=46)
		5-7-а доба	5-7-а доба
CD 3+ (Т-лімфоцити)	$66,2 \pm 0,5$	$47,12 \pm 0,91^*$	$50,93 \pm 0,83^*$
CD 4+ (Т-хелпери)	$43,9 \pm 0,8$	$29,12 \pm 0,61^*$	$30,77 \pm 0,6^*$
CD 8+ (Т-цитотоксичні)	$27,0 \pm 0,9$	$15,21 \pm 0,35^*$	$16,2 \pm 0,3^*$
CD 16+ (NK-клітини)	$13,5 \pm 0,7$	$19,12 \pm 0,45^*$	$18,97 \pm 0,41^*$
CD 20+ (В-лімфоцити)	$14,0 \pm 0,2$	$27,4 \pm 0,27^*$	$27,67 \pm 0,25^*$
CD 4+ / CD 8+	$1,9 \pm 0,02$	$1,92 \pm 0,18$	$1,87 \pm 0,16$

Примітка: * $p < 0,05$ по відношенню до нормальних значень.

ватці крові може буде маркером прогнозу розвитку ускладнень в післяопераційному періоді у хворих на рак шлунка.

REFERENCES

1. Belous T.A., Litvinova L.V., Pugachev K.K. [Prognostic value of morphological parameters of stomach cancer]. Russian Journal of Oncology. 2007; 2:13-18. [in Russian]
2. Movchan O.V. [Patterns of microsatellite instability in the development of inflammation in patients with gastric adenocarcinoma]. Dissertation of the candidate of medical sciences. 14.03.04 - pathological physiology. 02/26/2021 [in Ukrainian]
View at: Publisher site: http://irbis.bsmu.edu.ua/cgi-bin/irbis64r_12/cgiirbis_64.exe?LNG=uk&P21DBN=MEDLIBD&I21DBN=MEDLIBD_PRINT&S-21FMT=fullw_print&C21COM=F&Z21MFN=4980
3. Chang Y.H., Heo Y.J., Cho J., Song S.Y., Lee J., Kim K-M. Computational measurement of tumor immune microenvironment in gastric adenocarcinomas. Sci. Rep. 2018 Sep 17; 8(1):13887. DOI: 10.1038/s41598-018-32299-0.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-32299-0>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6141531/>
4. Daniel S.K., Seo Y.D., Pillarisetty V.G. The CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis as a mechanism of immune resistance in gastrointestinal malignancies. Semin. Cancer Biology. 2020; 65:1176-188. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.12.007.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X19304043?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31874281/>
5. Harada K, Lopez A, Shanbhag N., Badgwell B, Baba H, Ajani J. Recent advances in the management of gastric adenocarcinoma patients. F1000Res. 2018 Aug 30; 7:F1000 Faculty Rev-1365. DOI: 10.12688/f1000research.15133.1.
View at: Publisher site: <https://f1000research.com/articles/7-1365/v1>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30228868/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117861/>
6. Hissong E., Ramrattan G., Zhang P., Zhou X.K., Young G., Klimstra D.S., Shia J., Fernandes H., Yantiss R.K. Gastric Carcinomas With Lymphoid Stroma: An Evaluation of the Histopathologic and Molecular Features. Am J Surg Pathol. 2018; 42(4):463-452. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001018.
View at: Publisher site: https://journals.lww.com/ajsp/Abstract/2018/04000/Gastric_Carcinomas_With_Lymphoid_Stroma__An.3.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29438172/>
7. Huang D., Yang Y., Zhang S., Su Z., Peng T., Wang X., Zhao Y., Li S. Regulatory T-cell density and cytotoxic T lymphocyte density are associated with complete response to neoadjuvant paclitaxel and carboplatin chemoradiotherapy in gastric cancer. Exp. Ther Med. 2018. 16(5):3913-3820. DOI: 10.3892/etm.2018.6684.
View at: Publisher site: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2018.6684>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30344657/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6176141/>

Article history
Received: 04.03.2021
Revision requested: 11.04.2021
Revision received: 24.05.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ГИПЕРКРИОГЛОБУЛИНЕМИЯ КАК ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗВЕНО РАЗВИТИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

¹Багмут И.Ю., ²Мовчан А.В., ³Грамотюк С.М.

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

²Национальный институт рака, Киев, Украина

³Ассоциация биобанков Украины, Харьков, Украина

alexeymed@gmail.com

Актуальность. Важным вопросом является прогнозирование развития осложнений после проведения оперативных вмешательств по поводу рака желудка. Наиболее грозным является несостоятельность швов гастроэнтероанастомоза, что в большинстве случаев приводит к летальному исходу. Поэтому актуален поиск факторов и маркеров прогноза развития этих осложнений. Одними из основных маркеров, которые требуют изучения, являются факторы и маркеры воспаления.

Цель: выяснить патофизиологические закономерности развития воспаления и несостоятельности швов гастроэнтероанастомоза у пациентов, оперированных по поводу рака желудка, в зависимости от уровня криоглобулинемии.

Материалы и методы. Проведен анализ непосредственных результатов лечения 50 больных, которым в период 2013-2017 гг. выполнялось оперативное лечение в объеме дистальной субтотальной резекции желудка с формированием гастроэнтероанастомоза внутрибрюшной лимфодиссекции, в объеме D2. Определение криоглобулинов сыворотки крови проводили по методу Kalovidoris с модификациями. Проведена оценка количества Т-лимфоцитов (CD3), и среди них прицельно – Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8), а также CD4 и CD16 в сыворотке больных раком желудка в послеоперационном периоде.

Результаты. В 6 больных на фоне несостоятельности швов гастроэнтероанастомоза требовалось выполнение релапаротомии. Динамический мониторинг криоглобулинемии течение всего послеоперационного периода у пациентов с раком желудка обнаружил неадекватность изменений их концентрации в сыворотке крови в зависимости от времени наблюдения. В периферической крови больных с криоглобулинемией отмечается достоверное снижение числа CD3+ ($66,2 \pm 0,5\%$, $p < 0,05$).

Выводы. У больных с криоглобулинемией, оперированных по поводу рака желудка, формируется вторичная иммунная недостаточность. Уровень криоглобулинов в сыворотке крови может быть маркером прогноза развития осложнений в послеоперационном периоде у больных раком желудка.

Ключевые слова: криоглобулинемия, рак желудка, несостоятельность швов гастроэнтероанастомоза.

GIPERCRYOGLOBULINEMIA SUCH PATOPHYSIOLOGICAL LINK IN THE POSTOPERATIVE COMPLICATIONS FOR STOMACH CANCER PATIENTS

¹Bagmut I.Yu., ²Movchan OV, ³Gramatiuk S.M.

¹Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

²National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine

³Association of biobanks of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

aleexeymed@gmail.com

Relevance. An important issue is predicting the development of complications after surgery for gastric cancer. The most formidable is the failure of the sutures of gastroenteroanastomosis, which in most cases leads to mortality. Therefore, it is important to search for factors and markers to predict the development of these complications. One of the main markers that need to be studied are factors and markers of inflammation.

Objective: to determine of pathophysiological regularities in the development of gastroenteroanastomoses leakage in patients who operated for stomach cancer depends on cryoglobulin level.

Materials and methods. An analysis was carried out without a median result in the treatment of 50 patients, which were promptly operated for stomach cancer with distal subtotal resection of the stomach with the formation of gastroenteroanastomosis from 2013 to 2017. The determination of the blood counts was performed according to the method of A.E. Kalovidoris with modifications. An assessment was made of the number of T-lymphocytes (CD3), and the middle target - T-cytotoxic lymphocytes (CD8), as well as CD4 and CD16 in patients with stomach cancer in the postoperative period.

Results. 6 patients, on the background have had gastroenteroanastomoses leakage. Dynamic monitoring of blood cryoglobulinemia throughout the entire period of surgery in patients with cancer of the gaster, revealing the inadequacy of the concentration of the cryoglobulins. In the peripheral blood of patients, the CD3 + number is significantly reduced ($66.2 \pm 0.5\%$, $p < 0.05$).

Conclusions. In such a rank, carried out until the last day, it was established that in patients with cryoglobulinemia that are operated for the stomach cancer, the secondary immune deficiency can form, so that the level of blood cells in the blood is accelerated.

Key words: cryoglobulinemia-stomach cancer - gastroenteroanastomoses leakage

ВИДОВИЙ СПЕКТР МІКРОБІОТИ РОТОГЛОТКИ ДІТЕЙ З ІНФЕКЦІЙНИМ МОНОНУКЛЕОЗОМ ЕПШТЕЙН-БАРР ВІРУСНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Надрага О.Б. <https://orcid.org/0000-0002-3688-6179>
Корнійчук О.П. <https://orcid.org/0000-0003-4885-0525>
Клименко Х.П. <https://orcid.org/0000-0003-4131-8720>

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

kristinkalnmu@gmail.com

Актуальність. Мікробіота ротової порожнини є індивідуальною і сталість її складу забезпечує протективну функцію, що регулюється імунною системою. Дисбіотичні зміни в складі мікробіоти призводять до порушення місцевого імунітету та розвитку захворювань. При активізації герпетичної інфекції спостерігається пригнічення імунної відповіді, що сприяє підвищенню рівня колонізації бактеріями слизової, зокрема при гострому перебігу інфекційного мононуклеозу (ІМ).

Ціль: вивчити особливості видового складу мікробіому ротової порожнини та його чутливість до антибактеріальних препаратів у пацієнтів з ІМ.

Матеріали та методи. Оглянуто 306 дітей, віком від 7 до 236 місяців. Основна група (n=280) – діти з ІМ. Група порівняння (n=26) – діти з діагнозом «гострий тонзиліт». Основна група була поділена на дві підгрупи: підгрупа I – 234 дитини з ІМ, зумовленим вірусом Епштейн-Барр (ЕБВ), та II підгрупа – 46 дітей з коінфекцією вірусу ЕБВ та цитомегаловірусу (ЦМВ). Обстеження проводили відповідно до протоколу лікування: загальний та біохімічний аналіз крові, визначення антитіл класу IgM до ЕБВ та до ЦМВ, бактеріологічне дослідження слизу з ротоглотки з подальшим визначенням чутливості виявлених збудників до антибактеріальних препаратів.

Результати. У дітей, хворих на ІМ з коінфекцією, більш висока частота виділення пневмококу. За певних умов це може призводити до генералізації бактерійної інфекції. У дітей з гострим тонзилітом частіше виявлявся *Staphylococcus aureus* і *Streptococcus pyogenes*. Це підтверджує залучення бактерійного фактору з можливим подальшим розвитком гнійно-запального процесу. А також при тонзиліті висівалися дріжджеподібні гриби і формувалися бактерійно-грибкові асоціації. *S.pyogenes* має вищий рівень резистентності до β-лактамних антибіотиків у дітей з коінфекцією. Чутливість *Staphylococcus aureus* до всіх антибіотиків (крім пеніцилінів) менша у дітей з коінфекцією, ніж у дітей з гострим тонзилітом. Більш високий рівень резистентних до антибіотиків штамів виявлено серед ізолятів *Enterococcus spp.*, особливо у дітей з ІМ.

Висновки. Розвиток ІМ супроводжується мікроекологічним дисбіозом слизових оболонок ротоглотки і мигдаликів, котрі не забезпечують достатнього рівня колонізаційної резистентності, що сприяє поширенню антибіотикорезистентності серед представників як резидентної, так і транзитної мікробіоти.

Ключові слова: діти, мікробіота, інфекційний мононуклеоз, Епштейн-Барр вірус, антибіотикорезистентність.

Актуальність. Мікробіота (мікробіом) ротової порожнини є індивідуальною для кожної людини. Сталість цієї екосистеми регулюється імунною системою, яка регулює бактеріальну колонізацію і водночас має протективну функцію у відношенні penetрації мікроорганізмів у тканини [1, 2, 3] – передусім тих, для яких вхідними воротами є слизова оболонка ротової порожнини та мигдаликів.

При активізації герпетичної інфекції в організмі людини спостерігається пригнічення імунної відповіді, що сприяє підвищенню рівня колонізації бактеріями слизової, зокрема при гострому перебігу інфекційного мононуклеозу [4].

Відповідно до даних літератури, одним з ключових чинників розвитку патологічних змін на слизових оболонках ротоглотки у пацієнтів з інфекційним мононуклеозом є *Candida albicans*, яку виявляють практично у кожного четвертого хворого [5]. При цьому часто гриби висівають в асоціації з ентерококами (у 20 % хворих), або з грамнегативними бактеріями (у 40 % дітей). У 2002 році було проведено досліджен-

ня [6], що описує виявлення грибкової мікробіоти із застосуванням методу 6s секвенування РНК, що дало змогу засвідчити широку різноманітність грибків і описуючи їх як галофільні дріжджі.

Вище згадане зумовило актуальність питання вивчення мікробіоти ротоглотки при інфекційному мононуклеозі (ІМ), що є важливим як для підвищення ефективності лікування, так і опрацювання заходів попередження ускладнень при ІМ.

Ціль: вивчити особливості видового складу мікробіому ротової порожнини та його чутливість до антибактеріальних препаратів у пацієнтів з інфекційним мононуклеозом, спричиненим вірусом Епштейн-Барр, цитомегаловірусом та гострим тонзилітом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На базі Львівської обласної інфекційної лікарні під спостереженням перебувало 306 дітей, віком від 7 до 236 міс. Діти поступали у гострому періоді захворювання. Всім обстежуваним проводився загальний

та біохімічний аналіз крові, визначення антитіл касу IgM до вірусу Епштейн-Барр та до цитомегаловірусу та бактеріологічне дослідження слизу з ротоглотки з подальшим визначенням чутливості виявлених збудників до антибактеріальних препаратів.

В залежності від отриманих результатів серологічного дослідження крові методом імуноферментного аналізу дітей було розподілено на дві групи. До основної групи (n=280) входили діти з підтвердженим діагнозом «Інфекційний мононуклеоз», до групи порівняння (n=26) – діти, у яких діагноз ІМ не було підтверджено і встановлено діагноз «гострий тонзиліт». В свою чергу, основна група була поділена на дві підгрупи: підгрупа I – 234 дитини з ІМ, зумовленим вірусом Епштейн-Барр (ЕБВ), та II підгрупа – 46 дітей з коінфекцією вірусу ЕБВ та цитомегаловірусу (ЦМВ).

Дослідження мікробіоценозу ротоглотки проводилося у відповідності до методичних рекомендацій МВ 9.9.5-143-2007 Державної санітарно-епідеміологічної служби, затверджених наказом № 167 МОЗ України від 05.04.2007, та Європейського комітету по визначенню чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) [7].

Як передбачено інструктивними матеріалами, слиз з ротоглотки було забрано до початку лікування тампоном і з подальшим виділенням на агаризовані поживні середовища: кров'яний 5 % агар для виділення стрептококів, жовтково-сольовий агар для виділення стафілококів, середовище Ендо для ентеробактерій, шоколадний агар для гемофільних бактерій та Сабуро – для виділення грибів. Методи досліджень, які використані в науково-дослідній роботі,

є науково обґрунтовані та відповідають принципам Гельсінської декларації прав людини (1950 р.), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину (1997 р.) та вимогам чинного законодавства України. У ході проведення науково-дослідної роботи дотримано права та інтереси учасників дослідження відповідно до загальноприйнятих норм моралі, етики та деонтології. Пацієнти введені до дослідження згідно з письмовою інформованою згодою батьків. Протокол комісії з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького № 3 від 14.12.2016.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Пацієнти підгрупи I були госпіталізовані на $6,35 \pm 1,42$ день від появи перших симптомів захворювання, діти підгрупи II – на $5,37 \pm 0,83$ день захворювання. При госпіталізації у 95 % пацієнтів загальний стан розцінювався як середньої важкості. Тривалість перебування даних пацієнтів на стаціонарному лікуванні становила 9 діб. Найбільша кількість пацієнтів підгрупи I була госпіталізована влітку – 27,8 %, а діти підгрупи II хворіли частіше навесні – 43,48 %. Основний симптомокомплекс, що спостерігався у госпіталізованих, включав наявність гіпертермії, лімфаденіту та гепатоспленомегалії.

У всіх досліджуваних групах спостерігався ряд характерних для інфекційного мононуклеозу симптомів: набряк та гіпертрофія слизових оболонок мигдаликів зіву, збільшення усіх груп лімфатичних вузлів, особливо шийних та мезентеріальних, наявність налетів білого та жовтого кольору на слизовій оболонці мигдаликів та язика.

Таблиця 1

Видовий склад мікробіому ротової порожнини у пацієнтів з інфекційним мононуклеозом

Мікро-організми	Підгрупа I (ЕБВ), n=234			Підгрупа II (ЕБВ+ЦМВ), n=46			Група порівняння, n=26		
	Кількість дітей		Концентрація збудника, IgKУО/мл (M±m)	Кількість дітей		Концентрація збудника IgKУ/млО M±m	Кількість дітей		Концентрація збудника, IgKУО/мл (M±m)
	Абс.	%		Абс.	%		Абс.	%	
<i>Enterococcus spp.</i>	135	57,7	3,6±0,5	23	50,0	3,5±1,1	16	61,5	3,6±1,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	77	32,9	4,9±0,6	19	41,3	4,4±1,9	10	38,5	4,0±1,8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	53	22,6	2,4±1,0	5	10,9	3,0± 0,9	4	15,4	3,5±6,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	78	33,3	4,3±0,8	4	8,7	4,0± 0,7	11	42,3	4,7±2,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	24	10,3	3,5±0,7	5	10,9	3,5± 0,8	12	46,1	3,8±0,2
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	1,7	2,9±1,4	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella mobilis</i>	16	6,8	2,8±0,4	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	6,4	3,8±0,9	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	8	3,4	1,0±0,2	0	0	0	2	13,3	1,0±0
<i>Pseudomons aeruginosa</i>	5	2,1	2,4±0,3	0	0	0	0	0	0
<i>Candida</i>	0	0	0	0	0	0	7	26,9	2,3±0,8

При дослідженні мікробіому ротової порожнини стрептокок групи ентерококу був виявлений у 135 (57,7 %) дітей I підгрупи, у концентрації $3,61 \pm 0,48$ lg КУО/мл, та у 23 (50 %) дітей з II підгрупи – у концентрації $3,5 \pm 1,1$ lg КУО/мл. У групі порівняння частота виявлення ентерококу була вищою і становила 61,5%, у концентрації $3,6 \pm 1,0$ lg КУО/мл. Кількісний рівень ентерококів хворих дітей та дітей групи порівняння практично не відрізнялися.

Streptococcus pyogenes, який є основним чинником бактерійного фарингіту, виявлено у 22,6 % дітей підгрупи I у концентрації $2,4 \pm 1,0$ lg КУО/мл, при коінфекції у 10,9 % у концентрації $3,0 \pm 0,9$ lg КУО/мл.

У групі порівняння *Streptococcus pyogenes* виявлено у 15,4% дітей, у концентрації $3,5 \pm 6,4$ lg КУО/мл, що відповідає відсотку виділення бактерії від здорових дітей.

Streptococcus pneumoniae виділяли у 77 (32,9 %) випадках у дітей I підгрупи, що є дещо нижчим показником у порівнянні з частотою виділення бактерії від пацієнтів підгрупи II (41,3 %) та дітей групи порівняння (38,5 %). Проте при цьому кількісні рівні збудника при ІМ були вищими: $4,9 \pm 0,65$ lg КУО/мл у дітей підгрупи I; $4,4 \pm 1,9$ lg КУО/мл у пацієнтів підгрупи II; та $4,0 \pm 1,8$ lg КУО/мл у дітей групи порівняння.

Основним чинником гнійно-запальних процесів вважають *Staphylococcus aureus*, рівні колонізації якого у дітей з ІМ були дещо вищими за відповідний відсоток виявлення бактерії у дітей групи порівняння (33,3 % проти 42,3 %).

Для *Staphylococcus epidermidis* рівень колонізації при ІМ у 4,6 рази нижчий, ніж у дітей групи порівняння: 10,3 % та 46,1 %, відповідно. У пацієнтів з мікст-інфекцією (ЕБВ+ЦМВ) золотистий і епідермальний стафілококи (*Staphylococcus aureus* і *Staphylococcus epidermidis*) виявлено лише у декількох дітей, що становило відповідно 8,7 % та 10,9 %. Гемофільну паличку (*Haemophilus influenzae*) виявлено лише у 4-х дітей підгрупи I. Ентеробактерії не є симбіонтами ротоглотки і ротової порожнини, виявляються спорадично і є свідченням наявних дисбіотичних змін. *Escherichia coli* виявлено у 3,5 %, дітей підгрупи I, а у підгрупі порівняння, відповідно – 13,3 %. При мікст-інфекції кишкова паличка не виявлялася.

Також було виявлено ряд мікроорганізмів, які виділялися лише зі слизу ротоглотки дітей із ізольованою моноінфекцією (I підгрупа – ЕБВ). Це стосувалося бактерій роду *Klebsiella*: від 16 хворих (6,8 %) висіяно *Klebsiella mobilis*; від 15 пацієнтів (6,4 %) – *Klebsiella pneumoniae*; від 4 пацієнтів (1,75%) – *Haemophilus influenzae*; від 5 пацієнтів (2,1 %) – *Pseudomonas aeruginosa*.

Аналіз чутливості до антибіотиків виділеної із ротоглотки дітей бактерійної мікробіоти засвідчив незначні відмінності у антибіотикочутливості ізоля-

тів мікроорганізмів пацієнтів, хворих на ІМ та дітей групи порівняння.

Збереження чутливості *S.pyogenes* до бензилпеніциліну було зафіксовано у менше ніж половини дітей у кожній з обстежуваних груп (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика чутливості до антибіотиків *Streptococcus pyogenes*

Антибіотик	% штамів <i>Streptococcus pyogenes</i> , чутливих до антибіотиків		
	Підгрупа I (ЕБВ) n = 53	Підгрупа II (ЕБВ+ЦМВ) n = 5	Група порівняння n = 4
Пеніцилін	48,0	40,0	45,0
Ампіцилін	66,7	12,5	26,0
Амоксицилін	66,7	37,5	28,6
Ванкоміцин	50,0	12,5	65,0
Кліндаміцин	100	75,0	35,0
Амікацин	50,0	50,0	50,0
Еритроміцин	62,5	62,5	42,9
Цефотаксим	33,3	12,5	70,0
Цефтріаксон	66,7	12,5	68,0
Цефоперазон	33,3	37,5	28,6
Цефуросим	66,7	50,0	80,0
Офлоксацин	62,5	50,0	42,5

У дітей підгрупи II відсоток чутливих штамів до пеніцилінів групи амінопеніцилінів був ще нижчим і становив 12,5 %, у дітей групи порівняння 26 % чутливих до амоксициліну штамів. Лише у дітей з ІМ, спричиненим ЕБВ (I підгрупа), 66,7 % штамів β -гемолітичних стрептококів були чутливими як до ампіциліну, так і до амоксициліну. Зафіксовано зниження кількості чутливих штамів до ванкоміцину у пацієнтів підгрупи II (12,5 %) у порівнянні з ізолятами пацієнтів підгрупи I (50 %) та ізолятами групи порівняння (65 %). На тлі абсолютної чутливості (100 %) *S.pyogenes* до кліндаміцину (підгрупа I) частина ізолятів підгрупи II (25 %) та більшість ізолятів (35 %) у дітей групи порівняння були стійкими до вказаного антибіотика (табл. 2) Антибіотики групи аміноглікозидів не є препаратами вибору першого ряду при лікуванні дітей, втім 50 % стрептококів були резистентними серед ізолятів від пацієнтів усіх досліджуваних груп. Більш високим виявився відсоток чутливих штамів стрептококів до еритроміцину – 62,5 % в підгрупах I і II та 42,9 % в групі порівняння (табл. 2).

На тлі відносно високого показника чутливих штамів до цефуросиму (80 %) серед дітей групи порівняння зафіксовано 66,7 % і 50 % чутливих культур стрептокока

до цефалоспоруину II класу – цефуруксиму. Беталактами групи цефалоспоринів III класу нерідко є препаратами вибору при запальних процесах будь-якої локалізації у дітей, з чим пов'язане набуття ними резистентності, про що свідчить відсоток чутливих до цефотаксиму штамів у дітей, хворих на ІМ – 33,3 % (підгрупа I) і 12,5 % (підгрупа II) на тлі невисокого показника чутливості і серед дітей групи порівняння (14,3 %). Лише частка чутливих ізолятів стрептококу у дітей I підгрупи була вищою до цефтріаксону і становила 66,7 %. Близько третини усіх ізолятів, незалежно від групи дослідження, були чутливими до цефоперазону (табл. 2).

Частка чутливих штамів до офлоксацину розподілилася таким чином: підгрупа I – 62,5 %, підгрупа II – 50 %, група порівняння – 42,5 %.

Золотистий стафілокок, який може у невеликій кількості виділятися з ротоглотки і у здорових дітей, виявився чутливим до бензилпеніциліну у 34 % при виявленні у дітей групи порівняння та у 50 % при дослідженні дітей I і II досліджуваних підгруп (табл. 3). Метицилін-резистентних стафілококів не було виявлено. Ізоляти усіх досліджених дітей були чутливими до оксациліну. Натомість до ампіциліну зафіксовано розвиток резистентності у 50 % штамів, виділених у дітей підгрупи I та у 62,5 % дітей підгрупи II (табл. 3). Відсоток чутливих штамів до амоксициліну був приблизно однаковим, як при дослідженні ізолятів стафілококу групи порівняння (75 %), так і підгрупи I (74 %) та підгрупи II (76 %) (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика чутливості до антибіотиків *Staphylococcus aureus*

Антибіотик	% штамів <i>Staphylococcus aureus</i> , чутливих до антибіотиків		
	Підгрупа I (ЕБВ) n = 78	Підгрупа II (ЕБВ+ЦМВ) n = 4	Група порівняння n = 11
Пеніцилін	50,0	50,0	34,0
Оксацилін	100	100	100
Ампіцилін	50,0	62,5	50,0
Амоксицилін	74,0	76,0	73,0
Ванкоміцин	50,0	50,0	100
Кліндаміцин	50,0	50,0	100
Амікацин	20,0	50,0	68,6
Еритроміцин	62,5	50,0	84,0
Левоміцетин	20,0	0	0
Доксицилін	0	100	100
Цефотаксим	60,0	100	100
Цефтріаксон	50,0	80,0	67,3
Цефоперазон	50,0	75,0	80,0
Цефуруксим	60,0	62,5	80,0
Офлоксацин	84,0	80,0	96,0

Серед дітей, хворих на ІМ, спостерігається і зниження частки до 50 % виявлених чутливих штамів до ванкоміцину і кліндаміцину в порівнянні з ізолятами у дітей групи порівняння (100 %). На тлі чутливості 80 % серед штамів у групі порівняння частка чутливих до еритроміцину становила 62,5 % у підгрупі I та 50 % серед ізолятів стафілококу у дітей підгрупи II (табл. 3).

Серед вказаних культур зафіксовано також зниження чутливості до амікацину, що становить 20 % у підгрупі I та 50 % у підгрупі II, відповідно, що є значно нижче відносно кількості чутливих штамів серед дітей групи порівняння, де є збережена чутливість на рівні 68,6 %. Відсоток чутливих до цефалоспоринів штамів *S. aureus*, виділених у дітей групи порівняння, коливався від 67,3 % (для цефтріаксону) до 80 % (для цефуруксиму та цефотаксиму). Натомість реєструвалося деяке зниження виділення кількості чутливих штамів у дітей з ІМ, спричиненим ЕБВ, до 50 % (цефтріаксон) і 60 % (цефотаксим, цефуруксим) (табл. 3).

Стафілококи, як правило, можуть мати природну резистентність до фторхінолонів, про що свідчать невисокі показники виділення чутливих штамів золотистого стафілокока, виділеного від усіх досліджених дітей [8, 9, 10].

α-Гемолітичні стрептококи відносяться до нормосимбіонтів ротової порожнини, і підвищення рівня їх колонізації радше свідчить про вторинні дисбіотичні зміни у біотопах ротоглотки і ротової порожнини [11, 12].

Таблиця 4

Характеристика чутливості до антибіотиків *Enterococcus Streptococcus / Haemoliticus alpha*

Антибіотик	% штамів <i>Enterococcus Str / Haemoliticus alpha</i> , чутливих до антибіотиків		
	Підгрупа I (ЕБВ) n = 123	Підгрупа II (ЕБВ+ЦМВ) n = 25	Група порівняння n = 16
Пеніцилін	0	0	0
Оксацилін	50	40	50
Ампіцилін	12,5	15	50
Амоксицилін	25	30	60
Амікацин	30	50	10
Ванкоміцин	67,8	50	100
Кліндаміцин	25,	20	50
Еритроміцин	50	40	55
Доксицилін	25	100	100
Цефотаксим	25	25	25
Цефтріаксон	47,2	40	50
Цефоперазон	37,5	35	50
Цефуруксим	45	40	40
Офлоксацин	80	80	100

Стрептококи роду *Enterococcus* висівалися у вищому відсотку резистентних форм при дослідженні дітей I підгрупи. Так, за повної резистентності до пеніциліну лише 12,5 % чутливих ізолятів до ампіциліну, 25 % до амоксициліну і 67 % до ванкоміцину, відповідно, при абсолютній чутливості до останнього вказаного глікопептиду ізолятів у дітей груп порівняння. Показник виділення чутливих штамів ентерококу, виділених у дітей підгрупи II, був близьким до відповідних показників ізолятів у дітей підгрупи I (табл. 4).

Кількість чутливих штамів ентерококу до амікацину: у підгрупі I – 30 %, у підгрупі II – 25 %; до кліндаміцину, відповідно, 50 % чутливих ізолятів у підгрупі I та 20 % у підгрупі II. У групі дітей з гострим тонзилітом (група порівняння) чутливість ентерококу до амікацину становила 10 % і 50 % до кліндаміцину. У підгрупі I – 50 % культур, а у підгрупі II – 40 % культур чутливі до еритромицину. У дітей підгрупи I у і дітей підгрупи II виділено низький відсоток штамів ентерококу, чутливих до цефалоспоринов III покоління. У підгрупі I до цефотаксиму – 25 %, цефтриаксону – 47,2 % і цефторперазону – 37,5 % чутливих штамів; та у підгрупі II до цефотаксиму – 25 %, цефтриаксону – 40 %, цефторперазону – 35 % чутливих ізолятів. Показники ізолятів ентерококу у дітей групи порівняння відрізнялися незначно. Зафіксовано хорошу чутливість виділених штамів до препаратів групи фторхінолонів (табл. 4).

Мікробіота (мікробіом) ротової порожнини є індивідуальною для кожної людини і складається з популяції мікроорганізмів у відповідних асоціаціях, які колонізують слизову оболонку і беруть участь у формуванні екосистеми [2]. Різноманіття та співтовариство даних мікроорганізмів, утворюючи біотоп, розташовується на різних поверхнях ротової порожнини у вигляді біоплівки. Слизова оболонка рота і ротоглотки для певних мікробних патогенів є вхідними воротами, що визначає важливість її бар'єрної функції [8]. Основною особливістю мікробіому ротової порожнини і ротоглотки є здатність бактерій специфічними механізмами пристосовуватися до чинників навколишнього середовища та впливати на організм господаря [13].

Сталість екосистеми регулюється імунною системою, яка забезпечує бактеріальну колонізацію та має протективну функцію у відношенні penetрації мікроорганізмів у тканини [2, 3]. Будь-які порушення з боку екосистеми мікробіому призводять до зниження місцевого імунітету та розвитку захворювань, для яких вхідними воротами є слизова оболонка ротової порожнини та мигдаликів.

При активізації герпетичної інфекції в організмі людини спостерігається пригнічення імунної відповіді, що часто призводить до залучення бактеріальної флори у розвиток місцевого запального процесу. Стан імуносупресії безпосередньо сприяє підвищен-

ню рівня колонізації бактеріями слизової глотки та мигдаликів шляхом реалізації умовно-патогенною мікробіотою її патогенного потенціалу [14]. Це спостерігається при гострому перебігу інфекційного мононуклеозу.

Гострий тонзиліт з переважанням ексудативного компонента відноситься до основних клінічних синдромів, що супроводжують запальний процес при інфекційному мононуклеозі. У 19 % обстежуваних тонзиліт викликаний безпосередньо вірусом герпесу 5 типу – вірусом Епштейн-Барр, проте клінічно картина може відповідати запальному процесу бактеріальної етіології [8, 15]. При гістологічному дослідженні зразків зішкробу з мигдаликів хворих, у яких за результатами бактеріологічного дослідження було виявлено бета-гемолітичний стрептокок, було зафіксовано виражену активну penetрацію бактерій в епітеліальні клітини [3].

За останніми даними [16], у хворих з інфекційним мононуклеозом *S. pyogenes* кількісно переважає над іншими представниками грампозитивної мікробіоти і виділяється практично у 95,5 % хворих. Перевищення кількісного показника виділення стрептокока (>105 КУО/мл) можна вважати маркером дефіциту клітинної ланки імунітету, який супроводжує перебіг хвороби від гострого початку до повної реконвалесценції [1, 2, 4]. У свою чергу, коагулазонегативний стафілокок виявляється переважно у половині обстежуваних, з яких лише 30 % припадає на колонізацію *S. aureus* [17]. Більш важкий перебіг хвороби спостерігається у дітей зі стрептококовою інфекцією. *Streptococcus pyogenes*, як етіологічний агент ексудативного тонзиліту, є більш характерним для пацієнтів із ІМ без підтвердження серологічною реакцією наявності збудника EBV [4, 8]. Іншими мікробіологічними чинниками тонзиліту виступають *Haemophilus spp.* та метицилін-резистентний золотистий стафілокок (MSSA), яких також нерідко виявляють при ІМ [18]. Гемофільна паличка виявляє високу чутливість до препаратів цефотаксиму та азитроміцину [17, 18].

Мікробіота ротоглотки при ІМ, спричиненому ЕБВ (підгрупа I), характеризується більш широким спектром традиційних для запальних процесів ротоглотки грампозитивних патогенів – піогенного стрептококу, пневмококу, а також золотистого стафілококу, чому сприяє глибоке проникнення вірусної інфекції в епітеліальну тканину і пошкодження її [14, 19]. Лише у дітей вказаної підгрупи виявлено гемофільну паличку, а також грамнегативні палички інших таксонів – синьогнійну паличку та ентеробактерії, що свідчить про значне зниження колонізаційної резистентності і дисбіотичні зміни [3].

ВИСНОВКИ

Streptococcus pneumoniae частіше виділявся у дітей, хворих на інфекційний мононуклеоз з коінфекцією (Епштейн-Барр вірус та цитомегаловірус).

Staphylococcus aureus і *Streptococcus pyogenes* частіше виявлялися у дітей з гострим тонзилітом, ніж у дітей, хворих на інфекційний мононуклеоз.

При тонзиліті характерним є формування бактерійно-грибкових асоціацій, про що свідчить виділення дріжджеподібних грибів.

Streptococcus pyogenes виявляв більш високий рівень резистентності до β -лактамних антибіотиків (пеніцилінового ряду і цефалоспоринів III покоління) у дітей з коінфекцією, ніж у дітей з гострим тонзилітом.

Чутливість *Staphylococcus aureus* до всіх антибіотиків (крім пеніцилінів), менша у дітей з коінфекцією, ніж у дітей з гострим тонзилітом.

Більш високий рівень резистентних до антибіотиків штамів виявлено серед ізолятів *Enterococcus spp.*

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Gevkaliuk N., Sydliaruk N., Pynda M., Pudiak V., Krupey V. Condition of non-specific resistance of oral mucous membrane in children with viral influenza stomatitis in the concept of malt-system. *Georgian medical news*. 2018; (280-281): 34-40.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30204091/>
2. Zaytsev A.V., Boychenko O.N., Sidash Y.V., Kotelevska N.V., Nikolishyn A.K. Qualitative analysis of oral lactobacilli parameters at different stages of human life cycle and different caries indices. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland)*. 2020; 73(6), 1207-10.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32723954/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/32723954>
URL: <https://wiadlek.pl/wp-content/uploads/archive/2020/WLek202006124.pdf>
3. Nadraga A., Lutsyk A., Klymenko K., Khomyn O. The investigation of bacterial adhesion of palatine tonsils epithelial cells in patient with infectious mononucleosis. *EUREKA: Health Sciences*. 2021; (3), 45-52. DOI: 10.21303/2504-5679.2021.001835
View at: Publisher site: <http://journal.eu-jr.eu/health/article/view/1835>
4. Sudhakara P., Gupta A., Bhardwaj A., Wilson A. Oral Dysbiotic Communities and Their Implications in Systemic Diseases. *Dentistry journal*. 2018; 6(2): 10. DOI: 10.3390/dj6020010
View at: Publisher site: <https://www.mdpi.com/2304-6767/6/2/10>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29659479/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6023521/>
5. Naughton P., Healy M., Enright F., Lucey B. Infectious Mononucleosis: diagnosis and clinical interpretation. *British journal of biomedical science*. 2021 Apr 14; 1-10. DOI: 10.1080/09674845.2021.1903683
View at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09674845.2021.1903683?journalCode=tbbs20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33721513/>
6. Kharchenko Y, Zaretska A, Broshkov M. [The features of the course of infectious mononucleosis of different etiology in children]. *Georgian Medical News*. 2019 Feb; (287):51-6. [in Russian]
View at: [PubMed: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30958288/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30958288/)
7. Turk M., Mejanelle L., Šentjurs M., Grimalt J.O., Gunde-Cimerman N., Plemenitaš A. Salt-induced changes in lipid composition and membrane fluidity of halophilic yeast-like melanized fungi. *Extremophiles*. 2004; 8(1), 53-6. DOI: 10.1007/s00792-003-0360-5.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00792-003-0360-5>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15064990/>
Europe PMC: <http://europepmc.org/article/MED/15064990>
8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. CLSI document M100-S23.
View at: Publisher site: https://eucast.org/url:https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf
9. Tompkins K., Juliano J.J., van Duin D. Antimicrobial Resistance in Enterobacterales and Its Contribution to Sepsis in Sub-saharan Africa. *Frontiers in medicine*. 2021; 8: 615649. DOI: 10.3389/FMED.2021.615649
View at: Publisher site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.615649/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33575265/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7870712/>
10. Sebastian S., Tom A.A., Babu J.A., Joshy M. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from poultry environment and UTI patients in Kerala, India: A comparison study. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2021; 75: 101614. DOI: 10.1016/j.cimid.2021.101614.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147957121000060?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33517101/>
11. Giacomini E., Perrone V., Alessandrini D., Paoli D., Nappi C., Esposti L.D. Evidence of Antibiotic Resistance from Population-Based Studies: A Narrative Review. *Infection and drug resistance*. 2021; 14: 849-58. DOI: 10.2147/IDR.S289741
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33688220/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7937387/>
12. Hasibi M., Zargarani M., Asadollahi-Amin A. Infectious Mononucleosis Complicated with Bilateral

- Peritonsillar Abscess and Splenic Infarction. Case reports in infectious diseases. 2021; 6623834. DOI: 10.1155/2021/6623834
View at: Publisher site: <https://www.hindawi.com/journals/criid/2021/6623834/>
13. Lu B., Yan Y., Dong L., Han L., Liu Y., Yu J., Chen J., Yi D., Zhang M., Deng X., Wang C., Wang R., Wang D., Wei H., Liu D., Yi C. Integrated characterization of SARS-CoV-2 genome, microbiome, antibiotic resistance and host response from single throat swabs. Cell discovery. 2021; 7(1): 19. DOI: 10.1038/s41421-021-00248-3
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/s41421-021-00248-3>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33785729/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8008776/>
 14. Konechnyi Yu., Skurativskyi Yu., Tymchuk I., Pidhirnyi Ya., Korniyuchuk O. [Microbiological profile of nosocomial infections]. Proceeding of the Shevchenko Scientific Society. Medical Science. 2019; 55(1): 56-64. [In Ukrainian].
View at: Publisher site: www.mspsss.org.ua
NBUV: http://nbuv.gov.ua/UJRN/pntsh_lik_2019_55_1_6
 15. Fota-Markowska H., Rolla-Szczepańska R., Chudnicka A.M., Modrzewska R. [Profile of microorganisms isolated in nasopharyngeal swabs from the patients with acute infectious mononucleosis]. Wiadomosci Lekarskie. 2002; 55(3-4): 150-7. [in Polish]
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12181999/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/12181999>
 16. Bobruk S.V. [Lactoferrin, as an indicator of the inflammatory process in infectious mononucleosis in children]. Visnyk of Vinnytsia National Medical University. 2018; 22(1): 83-6. [in Ukrainian]
View at: Publisher site: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vvnm_u_2018_22_1_18
 17. chaired by Jim O'Neill. Review on antimicrobial resistance. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2019.
View at: Publisher site: <https://amr-review.org/Publications.html>
 18. Nevejan L., Goegebuer T., Mast P., Lemmens A. Pyelonephritis and bacteremia caused by Haemophilus parainfluenzae: case-report of an unusual pathogen. Acta Clinica Belgica. 2021; 76:152-4. DOI:10.1080/17843286.2019.1671059.
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17843286.2019.1671059?journalCode=yacb20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31545159/>
 19. Nadraga O.B., Klimenko K.P. Epstein-Barr and cytomegalovirus infection in children. Modern pediatrics. 2017; 7(87), 7-11. DOI: 10.15574/SP.2017.87.7 [in Russian]
View at: Publisher site: <http://sp.med-expert.com.ua/article/view/SP.2017.87.7>
URL: <https://med-expert.com.ua/journals/jepshtejn-barr-citomegalovirusnaja-infekcija-u-detej/>

Article history
Received: 01.06.2021
Revision requested: 12.06.2021
Revision received: 22.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ВИДОВОЙ СПЕКТР МИКРОБИОТЫ РОТОГЛОТКИ ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ ЭПШТЕЙН-БАРР ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Надрага О.Б., Корнийчук А.П., Клименко Х.П.

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, Украина

kristinkalnmu@gmail.com

Актуальность. Микробиота ротовой полости является индивидуальной, и постоянство ее состава обеспечивает протективную функцию, регулируется иммунной системой. Дисбиотические изменения в составе микробиоты приводят к нарушению местного иммунитета и развитию заболеваний. При активизации герпетической инфекции наблюдается угнетение иммунного ответа, что способствует повышению уровня колонизации бактериями слизистой, в частности при остром течении инфекционного мононуклеоза (ИМ).

Цель: изучить особенности видового состава микробиома ротовой полости и его чувствительность к антибактериальным препаратам у пациентов с ИМ.

Материалы и методы. Осмотрено 306 детей в возрасте от 7 до 236 месяцев. Основная группа (n = 280) – дети с ИМ. Группа сравнения (n = 26) – дети с диагнозом «острый тонзиллит». Основная группа была разделена на две подгруппы: подгруппа I - 234 ребенка с ИМ, обусловленным вирусом Эпштейн-Барр (ЭБВ), и II подгруппа – 46 детей с коинфекцией вируса ЭБВ и цитомегаловируса (ЦМВ). Обследование проводили в соответствии с протоколом лечения: общий и биохимический анализ крови, определение антител класса IgM к ЭБВ и к ЦМВ, бактериологическое исследование слизи из ротоглотки с последующим определением чувствительности выявленных возбудителей к антибактериальным препаратам.

Результаты. У детей, больных ИМ с коинфекцией, более высокая частота выделения пневмококка. При определенных условиях это может приводить к генерализации бактериальной инфекции. У детей с острым тонзиллитом чаще выявлялся

Staphylococcus aureus и *Streptococcus pyogenes*. Это подтверждает привлечение бактериального фактора с возможным последующим развитием гнойно-воспалительного процесса. А также при тонзиллите высевались дрожжеподобные грибы и формировались бактериально-грибковые ассоциации. *S.pyogenes* имеет высокий уровень резистентности к β -лактамам антибиотикам у детей с коинфекцией. Чувствительность *Staphylococcus aureus* ко всем антибиотикам (кроме пеницилина) меньше у детей с коинфекцией, чем у детей с острым тонзиллитом. Более высокий уровень резистентных к антибиотикам штаммов выявлено среди изолятов *Enterococcus spp.*, особенно у детей с ИМ.

Выводы. Развитие ИМ сопровождается микрoэкологическим дисбиозом слизистых оболочек ротоглотки и миндалин, которые не обеспечивают достаточного уровня колонизационной резистентности, способствует распространению антибиотикорезистентности среди представителей как резидентной, так и транзитной микробиоты.

Ключевые слова: дети, микробиота, инфекционный мононуклеоз, Эпштейн-Барр вирус, антибиотикорезистентность.

THE OROPHARYNX MICROBIOME PROFILE OF CHILDREN WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS EPSTEIN-BARR VIRAL ETIOLOGY

Nadruga A.B., Korniychuk O.P., Klymenko Kh.P.

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

kristinkalnmu@gmail.com

Relevance. The microbiota of the oral cavity is individual and the consistency of its composition provides a protective function that is regulated by the immune system. Dysbiotic changes in the oral microbiota composition lead to a devastation of local immunity and provide to the disease's development. Herpes virus infection activation suppresses the immune response which increases the level of oral mucosa bacteria colonization in particular during the acute course of infectious mononucleosis (IM).

Objective: to study the features of the oral microbiome composition and its sensitivity to antibacterial drugs in patients with infectious mononucleosis and acute tonsillitis.

Materials and methods. We examined 306 children aged 7 to 236 months. The main group (n = 280) – children with IM. Comparison group (n = 26) – children diagnosed with acute tonsillitis. The main group was divided into two subgroups: subgroup I – 234 children with MI caused by the Epstein-Barr virus (EBV), and subgroup II – 46 children with co-infection with the EBV virus and cytomegalovirus (CMV). The examination was performed according to the treatment protocol: general and biochemical analysis of blood, determination of IgM antibodies to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus, bacteriological examination of oropharyngeal mucus, followed by determination of the sensitivity of the identified pathogens to antibacterial drugs.

The results. In oral microbiome of children with IM caused by EBV and CMV co-infection pneumococcus dominant. In children with acute tonsillitis, *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* infection, and yeast-like fungi were predominant. *S. pyogenes*, in children with co-infection, has a high level of resistance to β -lactam antibiotics. Higher levels of antibiotic-resistant strains were found among *Enterococcus spp.* Isolates, especially in children with EBV-induced MI and co-infection of EBV and CMV.

Conclusions. The development of MI is accompanied by microecological dysbiosis of the mucous membranes of the oropharynx and tonsils, which do not provide enough level of colonization resistance, contributing to the spread of antibiotic resistance among resident and transient microbiota.

Keywords: children, microbiome, infectious mononucleosis, Epstein-Barr virus, antibiotic resistance.

КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОЇ КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В УМОВАХ СЬОГОДЕННЯ

Москалюк В.Д. <https://orcid.org/0000-0001-6206-1210>

Рандюк Ю.О. <https://orcid.org/0000-0003-2154-8115>

Баланюк І.В. <https://orcid.org/0000-0002-3258-9791>

Колотило Т.Р. <https://orcid.org/0000-0002-0821-7904>

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна

balanyk85@gmail.com

Актуальність. В умовах сьогодення увага медичних працівників кожної країни прикута до спалаху гострого захворювання респіраторного тракту, що отримало назву коронавірусна хвороба 2019 року – COVID-19. На сьогодні спостерігається зростання захворюваності на цю недугу як в Україні, так і за її межами, хвороба має тяжкий перебіг, зросла смертність і збільшився відсоток захворювань серед дітей.

Ціль: проаналізувати клініко-епідеміологічні особливості перебігу COVID-19 на Буковині.

Матеріали та методи. Проведено ретроспективний аналіз історій хвороб пацієнтів із підтвердженим діагнозом COVID-19, які перебували на стаціонарному лікуванні в інфекційному відділенні ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня».

Результати. Вік пацієнтів становив від 22 до 79 років; середній вік – 53,6 років. Чоловіків було 35, жінок – 30 (відповідно, 53,8 % та 46,2 %). У більшості пацієнтів перебіг хвороби був середнього ступеня тяжкості, і лише у 6 % пацієнтів спостерігався тяжкий перебіг захворювання. У кожного госпіталізованого в стаціонар пацієнта відмічалось ураження бронхів та легень, які були підтверджені рентгенологічно та методом комп'ютерної томографії (КТ). У структурі діагностованих пневмоній переважав двобічний процес ураження легень (98,3 %). У 11 пацієнтів (16,9 %) відмічалися симптоми ураження шлунково-кишкового тракту.

Висновки. Сприйнятливість до нової коронавірусної інфекції загальна. Проте у людей похилого віку, а також у пацієнтів із супутніми патологіями частіше розвиваються тяжкі симптоми хвороби та спостерігається вища смертність. Пацієнти групи ризику з тяжким перебігом (6 %) вимагали особливої уваги. На ранніх стадіях захворювання виправдано застосування мінімальної респіраторної підтримки шляхом проведення оксигенотерапії.

Ключові слова: коронавірусна інфекція, COVID-19, SARS-CoV-2, дорослі, клініка, діагностика.

Актуальність. З кожним роком людство стикається із новими хворобами вірусної етіології, з непередбачуваним виникненням і тяжкими проявами. Виникнення цих захворювань обумовлено непередбачуваною антигенною мінливістю вірусів, яка пов'язана зі спонтанними змінами їх антигенних детермінант [1, 2, 5].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, коронавірусна інфекція (КВІ) у структурі ГРВІ становить від 4 до 12 %. Деякі дослідники вважають, що коронавіруси мають здатність викликати епідемічні спалахи різної інтенсивності, пік розвитку яких припадає на період максимальної циркуляції збудника: грудень-січень, березень-квітень, жовтень-листопад. [6, 8, 14]. Кількість сприйнятливих осіб в період спалаху може бути доволі значною, що свідчить про високу контагіозність даного збудника [3, 9, 11].

В умовах сьогодення увага медичних працівників кожної країни прикута до спалаху гострого захворювання респіраторного тракту, що отримало назву коронавірусна хвороба 2019 року – COVID-19. Його збудником є коронавірус SARS-CoV-2. З моменту появи перших випадків інфікування SARS-CoV-2 вірус поширився у 216 країн, інфікувавши понад 100 млн людей і спричинивши більш як 2,5 млн смертей [4, 12, 16]. До того ж, відповідно до епідеміологічних законів,

масштабне поширення інфекції може супроводжуватися зростанням вірулентності збудника зі збільшенням числа тяжких форм захворювання в подальшому не тільки у дорослих, але і у дітей [10, 17, 22].

В Україні перший випадок COVID-19 зафіксовано в Чернівцях 3 березня 2020 р. у чоловіка, який прибув з Італії. Загалом в Україні (станом на 03.03.2021 р.) 1 364 705 лабораторно підтверджених випадків COVID-19, із них 26 397 летальних, 1 182 036 пацієнтів одужали. Проведено **6 983 925** тестувань методом ПЛР.

На сьогодні спостерігається зростання захворюваності на цю недугу як в Україні, так і за її межами, хвороба має тяжкий перебіг, зросла смертність і збільшився відсоток захворювань серед дітей [7, 26, 21].

Ціль: проаналізувати клініко-епідеміологічні особливості перебігу COVID-19 на Буковині.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено ретроспективний аналіз історій хвороб пацієнтів із підтвердженим діагнозом COVID-19, які перебували на стаціонарному лікуванні в інфекційному відділенні ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня». Вивчено клініко-епідеміологічні особливості перебігу хвороби. Усі дані статистично опра-

цьовані і представлені в абсолютних та інтенсивних показниках.

Вибірка становила 65 медичних карт стаціонарних хворих.

Діагноз підтверджували дослідженням мазків з носоглотки, які забирали дакроновими швабами з послідуємим розміщенням в транспортне середовище для респіраторних мазків. Біологічний матеріал відбирали в перші 24 год з моменту госпіталізації хворих з ознаками ГРВІ та підозрою на COVID-19 і досліджували методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР). У всіх хворих отримано позитивний результат.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вік пацієнтів становив від 22 до 79 років; середній вік – 53,6 років. Чоловіків було 35, жінок – 30 (відповідно, 53,8 % та 46,2 %). У більшості пацієнтів перебіг хвороби був середнього ступеня тяжкості, і лише у 6 % пацієнтів спостерігався тяжкий перебіг захворювання.

При дослідженні соціального статусу хворих встановлено, що 21 (32,3 %) з них – працюючі, 44 (67,7 %) – безробітні, 29 людей пенсійного віку та 3 студентів.

Середня тривалість перебування хворого в стаціонарі становила 15 ліжко-днів. 54 (83,0 %) особи звернулися за медичною допомогою на 6-7-й день хвороби. Після 7-го дня захворювання звернулося 11 (17,0 %) хворих.

Проведений аналіз клінічних проявів у хворих з коронавірусною інфекцією. Результати представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Основні клінічні прояви у хворих з підтвердженням діагнозом COVID-19

Клінічні симптоми	Кількість спостережень (n=65)	
	Абсолютно	%
Втрата нюху	39	60
Втрата смаку	27	41,5
Загальна слабкість	59	90,8
Підвищення температури тіла	65	100
Кашель сухий	38	58,5
Кашель продуктивний	18	27,7
Задихка	11	16,9
Біль у м'язах	21	32,3
Головний біль	13	20,0
Біль у грудях	43	66,1
Біль у горлі	17	26,1
Блювання та нудота	14	21,5
Кишкові розлади	11	16,9

У кожного госпіталізованого в стаціонар пацієнта відмічалось ураження бронхів та легень, які були підтверджені рентгенологічно та методом комп'ю-

терної томографії (КТ). У структурі діагностованих пневмоній переважав двобічний процес ураження легень (98,3 %). У 4 осіб (6,2 %) спостерігалася негоспітальна нижньодольова правобічна пневмонія.

На початку хвороби хворі скаржилися на сухий кашель, який протягом 1-2 діб трансформувався у вологий з помірною кількістю харкотиння. У двох хворих (3,07 %) відмічався бронхо-обструктивний синдром, який зберігався протягом 4-6 днів та супроводжувався розвитком дихальної недостатності I ступеня.

У 11 пацієнтів (16,9 %) відмічалися симптоми ураження шлунково-кишкового тракту у вигляді помірного здуття живота, болю в навколо-пупкової ділянці та послаблення випорожнень 2-3 рази на добу.

У більшості госпіталізованих хворих відмічалась наявність супутньої хронічної патології, що значно ускладнювало перебіг основного захворювання.

Таблиця 2

Супутня хронічна патологія у хворих на коронавірусну інфекцію

Супутня патологія	Кількість спостережень (n=59)	
	Абсолютно	%
Гіпотиреоз	2	3,4
ІХС. Дифузний кардіосклероз	18	30,5
Хронічний пієлонефрит	3	5,0
Цукровий діабет II типу	13	22,0
Подагра	1	1,7
Гіпертонічна хвороба	11	18,6
Панкреатит	5	8,5
Хронічний дуоденіт.	2	3,4
Виразкова хвороба шлунка		
Ожиріння	4	6,8

Важливим прогностичним критерієм перебігу COVID-19 є насичення (сатурація) киснем крові (SpO2). Нормальний рівень SpO2 становить 98-100 %. При ураженні органів дихальної системи, зокрема і при КВІ, рівень насичення крові киснем падає, знижуючись до критичних значень. Низький рівень сатурації (90 % і нижче) викликає розвиток гіпоксії та гострої дихальної недостатності [4, 13, 16, 18]. На сьогодні одним із критеріїв, що визначають необхідність у госпіталізації хворого, є рівень SpO2 92 % і нижче.

Нами проаналізовано показники рівня SpO2 (рис. 1).

Встановлено, що, незважаючи на стаціонарне лікування, у більшості хворих на 5-7 добу захворювання відмічається зниження рівня SpO2. Цей період є найбільш небезпечним для пацієнтів з COVID-19, адже більшість ускладнень, зокрема гостра дихальна

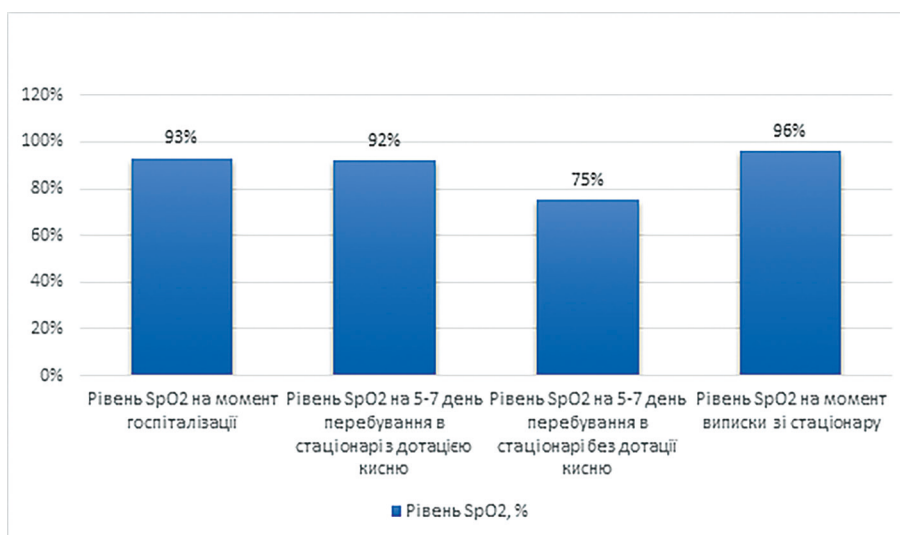


Рис. 1. Зміни рівня SpO2 в залежності від дня перебігу COVID-19

недостатність, розвиваються саме в цей час. Науковці пояснюють цей феномен із певними патогенетичними ланками впливу SARS-CoV-2 на легені, а саме з виникненням спочатку інтенсивної локальної (легені), а потім вже й системної запальної реакції, що супроводжується «цитокіновою бурєю» [15, 19, 20]. Це зрештою при важкому ступеню хвороби призводить до зниження рівня SpO2 і «гострого респіраторного дистрес-синдрому» (ГРДС).

Встановлено, що для підвищення рівня SpO2 та полегшення загального стану пацієнта використовували лише оксигенотерапію в поєднанні з положенням пацієнта на животі (прон-позиція), що сприяло поліпшенню вентиляційно-перфузійних відносин [25, 24].

Натепер доказової специфічної терапії для SARS-CoV-2 не існує, проте розроблена специфічна профілактика (вакцинація). Але рівень охоплення вакцинацією від COVID-19 поки залишається низьким, тому лише суворі епідеміологічні заходи, які запобігають поширенню інфекції, мають вирішальне значення.

ВИСНОВКИ

Сприйнятливість до нової коронавірусної інфекції загальна. Проте в людей похилого віку, а також у пацієнтів із супутніми патологіями частіше розвиваються тяжкі симптоми хвороби та спостерігається вища смертність. Такі пацієнти потребують пильного нагляду медичного персоналу та тривалої госпіталізації.

У кожного госпіталізованого в стаціонар пацієнта відмічалось ураження бронхів та легень, які були підтверджені рентгенологічно та методом комп'ютерної томографії. Пацієнти групи ризику з тяжким перебігом (6 %) вимагали особливої уваги, обов'язкової ранньої госпіталізації, призначення своєчасного адекватного лікування для попередження розвитку ускладнень.

На 5-7 добу перебування у стаціонарі у всіх пацієнтів відмічалось зниження рівня SpO2, незважаючи на оксигенотерпію, що, ймовірно, пов'язано із розвитком системної запальної реакції, що супроводжується «цитокіновою бурєю».

При лікуванні пацієнтів з COVID-19, які страждають тяжкими супутніми захворюваннями, необхідна співпраця лікарів-реаніматологів та профільних фахівців. На ранніх стадіях захворювання виправдано застосування мінімальної респіраторної підтримки шляхом проведення оксигенотерапії.

REFERENCES

- Zadorozhna VI, Vynnyk NP. [Coronavirus 2019-nCoV: new challenges for health and humanity]. *Infectious diseases*. 2020; 1(99): 5-15. [in Ukrainian]. DOI <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2020.1>
View at: Publisher site: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/inf-patol/issue/view/638>
- A World at risk: Annual report on global preparedness for health emergencies. Global Preparedness Monitoring Board. 2019.
View at: Publisher site: https://apps.who.int/gpmb/assets/annual_report/GPMB_annualreport_2019.pdf
- Chan J.F.-W., Kok K.-H., Zhu Z., Chu H., To K.K.-W., Yuan S., Yuen K.-Y. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes & Infections*. 2020; 9(1): 221-36. DOI: 10.1080/22221751.2020.1719902
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1719902>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31987001/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7067204/>
- WHO: New case of laboratory-confirmed SARS in Guangdong, China – update 5. – 31 January 2004.

- View at: Publisher site: https://www.who.int/csr/don/2004_01_31/en/
5. WHO: MERS situation update. – December 2019.
View at: Publisher site: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html>
 6. WHO: Novel coronavirus – China (Disease outbreak news: Update 12 January 2020).
View at: Publisher site: <https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>
 7. Zhao S., Musa S.S., Lin Q., Ran J., Yang G., Wang W., Lou Y., Yang L., Gao D., He D., Wang M.H. Estimating the Unreported Number of Novel Coronavirus (2019-nCoV) Cases in China in the First Half of January 2020: A Data-Driven Modelling Analysis of the Early Outbreak. *J. Clin. Med.* 2020; 9(2):E388. DOI: 10.3390/jcm9020388.
View at: Publisher site: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/2/388>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32024089/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074332/>
 8. WHO: Novel Coronavirus – Japan (ex-China) (Disease outbreak news: 16 January 2020. Electronic resource.
View at: Publisher site: <https://www.who.int/csr/don/16-january-2020-novel-coronavirus-japan-ex-china/en/>
 9. Lu R., Zhao X., Li J. [et al.] Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020 January; 395(10224). DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8
View at: Publisher site: [https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(20\)30251-8/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(20)30251-8/fulltext)
URL: <https://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736%2820%2930251-8.pdf>
 10. Guan W., Ni Z., Hu Y. [et al.] Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *medRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.02.06.20020974
View at: Publisher site: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.06.20020974v1>
URL: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.06.20020974v1.full.pdf>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/ppr/ppr112207>
 11. Wang D., Hu B., Hu Ch., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B., Xiang H., Cheng Zh., Xiong Y., Zhao Y., Li Y., Wang X., Peng Zh. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020 Mar 17; 323(11):1061-9. DOI:10.1001/jama.2020.1585
View at: Publisher site: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2761044>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32031570/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7042881/>
 12. Huang C., Wang Y., Li X. [et al.] Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395(10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
View at: Publisher site: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30183-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30183-5/fulltext)
 13. Zhang H., Kang Z.J., Gong H.Y., Xu D, Wang J, Li Z, Cui X, Xiao J, Meng T, Zhou W, Liu J, Xu H. The digestive system is a potential route of 2019 nCoV infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. *bioRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.01.30.927806
View at: Publisher site: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.30.927806v1>
 14. Holshue M.L., DeBolt C., Lindquist S. [et al.] First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *N. Engl. J. Med.* 2020 Mar 5;382(10):929-36. DOI: 10.1056/NEJMoa2001191.
View at: Publisher site: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001191>
https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001191#.XjidfXC_qWQ.twitter
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32004427/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7092802/>
 15. Zhao Y., Zhao Z., Wang Y. Zhou Y., Ma Y., Zuo W. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV. *medRxiv.* 2020 January 26. DOI: 10.1101/2020.01.26.919985
View at: Publisher site: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.26.919985v1>
 16. Linton N.M., Kobayashi T., Yang Y., Hayashi K., Akhmetzhanov A.R., Jung S-M, Yuan B., Kinoshita R., Nishiura H. Incubation period and other epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus infections with right truncation: A statistical analysis of publicly available case data. *J. Clin. Med.* 2020; 9(2): 538. DOI: 10.3390/jcm9020538
View at: Publisher site: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/2/538>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32079150/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074197/>
 17. Backer J.A., Klinkenberg D., Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January. *Euro Surveill.* 2020 Feb; 25(5):2000062. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062
View at: Publisher site: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32046819/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7014672/>
 18. Tracking coronavirus: Map, data and timeline. *BNO Neus.* 2020.
View at: Publisher site: <https://bnonews.com/index.php/2020/04/the-latest-coronavirus-cases/>
 19. COVID-19 Coronavirus Outbreak. Last updated: February 22, 2020.

- View at: Publisher site: <https://www.worldometers.info/coronavirus>
20. Riou J., Althaus C.L. Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(4):2000058. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.4.2000058.
View at: Publisher site: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.4.2000058>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32019669/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7001239/>
 21. Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection.* 2020 March; 104(Issue 3): 246-51. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.01.022
View at: Publisher site: [https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(20\)30046-3/fulltext](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(20)30046-3/fulltext)
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195670120300463>
 22. Agostini M.L., Andres E.L., Sims A.C. [et al.] Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease. *mBio.* 2018 March; 9(2): e00221-18. DOI: 10.1128/mBio.00221-18.
View at: Publisher site: <https://mbio.asm.org/content/9/2/e00221-18>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29511076/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5844999/>
 23. Beck B.R., Shin B., Choi Y., Park S., Kang K. Predicting commercially available antiviral drugs that may act on the novel coronavirus (2019-nCoV), Wuhan, China through a drug-target interaction deep learning model. *bioRxiv.* 2020 February. DOI: 10.1101/2020.01.31.929547
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2001037020300490?via%3Dihub>
Publisher site: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.31.929547v1>
URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.31.929547v1.full.pdf>
 24. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infections.* 2020 Jan 31; 9(1): 275-7. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1723441>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32005086/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7033706/>
 25. Coppo A, Bellani G, Winterton D, [et al]. Feasibility and physiological effects of prone positioning in non-intubated patients with acute respiratory failure due to COVID-19 (PRON-COVID): a prospective cohort study. *Lancet Respir Med.* 2020; S2213- 2600(20)30268-X. DOI:10.1016/S2213-2600(20)30268-X
View at: Publisher site: [https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(20\)30268-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(20)30268-X/fulltext)

Article history
Received: 04.04.2021
Revision requested: 10.05.2021
Revision received: 06.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Москалюк В.Д., Рандюк Ю.О., Баланюк І.В., Колотило Т.Р.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

balanyk85@gmail.com

Актуальность. В современных условиях внимание медицинских работников каждой страны приковано к вспышке острого заболевания респираторного тракта, получившее название коронавирусная болезнь 2019, или COVID-19. Сегодня наблюдается рост заболеваемости этим недугом как в Украине, так и за ее пределами, болезнь имеет тяжелое течение, выросла смертность и увеличился процент заболеваний среди детей.

Цель: проанализировать клинико-эпидемиологические особенности течения COVID-19 на Буковине.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ историй болезней пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19, находившихся на стационарном лечении в инфекционном отделении ОКНП «Черновицкая областная клиническая больница».

Результаты. Возраст пациентов составлял от 22 до 79 лет; средний возраст – 53,6 лет. Мужчин было 35, женщин – 30 (соответственно, 53,8 и 46,2%). У большинства пациентов болезнь протекала в средней степени тяжести, и только у 6% пациентов наблюдалось тяжелое течение заболевания. У каждого госпитализированного в стационар пациента отмечалось поражение бронхов и легких, которые были подтверждены рентгенологически и методом компьютерной томографии (КТ). В структуре диагностированных пневмоний преобладал двусторонний процесс поражения легких (98,3%). У 11 пациентов (16,9%) отмечались симптомы поражения желудочно-кишечного тракта.

Выводы. По данным нашего наблюдения, можно сделать вывод, что восприимчивость к новой коронавирусной инфекции всеобщая. Однако у пожилых людей, а также у пациентов с сопутствующими патологиями чаще развиваются тяжелые симптомы болезни и наблюдается высокая смертность. Пациенты группы риска с тяжелым течением (6%) требовали особого внимания. На ранних стадиях заболевания оправдано применение минимальной респираторной поддержки путем проведения оксигенотерапии.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, COVID-19, SARS-CoV-2, взрослые, клиника.

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION IN THE PRESENT CONDITIONS

Moskalyuk VD, Randiuk YO, Balanyuk IV, Kolotylo TR

Bukovynian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

balanyk85@gmail.com

Relevance. In today's world, the attention of health professionals in each country is focused on the outbreak of acute respiratory disease, called coronavirus disease in 2019 - COVID-19. Today there is an increase in the incidence of this disease both in Ukraine and abroad, the disease is more severe, mortality has increased and the percentage of diseases among children has increased.

Objective is to analyze the clinical and epidemiological features of COVID-19 in Bukovina.

Materials and methods. A retrospective analysis of medical histories of patients with confirmed diagnosis of COVID-19, who were hospitalized in the infectious department of OKNP «Chernivtsi Regional Clinical Hospital».

Results. The age of patients ranged from 22 to 79 years; the average age is 53.6 years. There were 35 men and 30 women (53.8 and 46.2%, respectively). In most patients the course of the disease was moderate, and only 6% of patients had a severe course of the disease. Each hospitalized patient had bronchial and pulmonary lesions, which were confirmed radiologically and by computed tomography (CT). The structure of diagnosed pneumonia was dominated by bilateral lung damage (98.3%). Symptoms of gastrointestinal lesions were noted in 11 patients (16.9%).

Conclusions. According to our observations, we can conclude that susceptibility to a new coronavirus infection is common. However, the elderly, as well as patients with comorbidities, are more likely to develop severe symptoms and higher mortality. Patients at risk with severe course (6%) required special attention. In the early stages of the disease, the use of minimal respiratory support through oxygen therapy is justified.

Key words: coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, adults, clinic.

ВДОСКОНАЛЕННЯ АНАЛІТИЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗА ЗАСТОСУВАННЯМ ПЕСТИЦИДІВ В СИСТЕМІ ХІМІЧНОГО ЗАХИСТУ НУТУ

Коришун О.М. <https://orcid.org/0000-0003-1591-7340>

Ліпавська А.О. <https://orcid.org/0000-0001-5870-2206>

Мілохов Д.С. <https://orcid.org/0000-0002-7493-3634>

Аврамчук А.О. <https://orcid.org/0000-0002-0469-1959>

Омельчук С.Т. <https://orcid.org/0000-0003-3678-4241>

*Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця,
Київ, Україна*

lab_chrom@ukr.net

Актуальність. На сьогоднішній день відсутні затверджені в Україні методики визначення в зерні нуту азоксистробіну, тіабендазолу, флудіоксонілу та піридагу. Тому існує потреба наукового обґрунтування вибору методу, розробки умов пробопідготовки зерна нуту, якісної ідентифікації та кількісного визначення в цій матриці діючих речовин пестицидних препаратів, які входять до системи захисту нуту. Це дозволить контролювати встановлені гігієнічні нормативи пестицидів та мінімізувати їх негативний вплив на здоров'я населення та довкілля.

Ціль: розробити методики визначення в зерні нуту азоксистробіну, тіабендазолу, флудіоксонілу та піридагу.

Матеріали та методи. Хроматографічний аналіз проводили на рідинних хроматографах фірми Шімадзу (Японія) із застосуванням ультрафіолетового та флуоресцентного детектування.

Для статистичної обробки результатів використовували пакет статистичних програм IBM SPSS StatisticsBase v.22 та MS Excel.

Результати. Розроблені нами оптимальні умови пробопідготовки зерна нуту та хроматографічного вимірювання азоксистробіну, флудіоксонілу, тіабендазолу та піридагу (як суми піридагу та його метаболіту – піридафолу) з межами кількісного визначення 0,1; 0,1; 0,01 та 0,05 мг/кг, відповідно, забезпечують визначення аналізованих сполук на необхідному рівні (міра правильності становить (72-75) %) та дозволяють контролювати встановлені гігієнічні нормативи цих сполук в зерні нуту.

Висновки. Розроблені методики визначення азоксистробіну, флудіоксонілу, тіабендазолу та піридагу в зерні нуту методом високоефективної рідинної хроматографії дозволяють контролювати встановлені гігієнічні нормативи, отримувати репрезентативну інформацію щодо вмісту залишків пестицидів, що є передумовою оцінки ризику застосування хімічних засобів захисту рослин.

Ключові слова: пестициди, зерно нуту, межа кількісного визначення, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).

Актуальність. Зернобобові культури – незамінні учасники сівозміни, оскільки у симбіозі з азотфіксуючими бактеріями насичують ґрунт азотом, чим сприяють урожайності найціннішої зернової культури – пшениці озимої. Однією з найдавніших та найпоширеніших зернобобових культур є нут, який використовують в усьому світі на харчові та кормові цілі. Поєднання найвищих серед зернобобових культур посухо-, жаро- та холодостійкості робить нут унікальним і сприяє його популярності, особливо, в зв'язку із сучасними змінами погодних умов [1].

Тому закономірно, що в Україні збільшують площі під цією сільськогосподарською культурою і стає потреба в отриманні високих урожаїв, що на сьогоднішній час неможливо без застосування пестицидних препаратів. Це, в свою чергу, обумовлює необхідність здійснення гігієнічного контролю залишкових кількостей їх діючих речовин в зерні нуту.

В 2018-2019 роках були проведені державні медико-біологічні випробування наступних препаратів на цій культурі: фунгіциду для передпосівної обробки

насіння Максим Адванс 195 FS, ТН (діючі речовини (д.р.) – тіабендазол, флудіоксоніл та металаксил-М) з нормою витрати препарату (н.в.) 1,0 л/т, післясходового гербіциду Лентагран 600, КЕ (д.р. – піридат) з н.в. 2,0 л/га одноразово та фунгіциду Кустодія, КС (д.р. – азоксистробін + тебуконазол) з н.в. 1,2 л/га дворазово.

Ціль: розробити методики визначення в зерні нуту азоксистробіну, тіабендазолу, флудіоксонілу та піридагу

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для приготування (в ацетонітрилі) вихідних стандартних розчинів досліджуваних сполук з концентрацією 100 мкг/мл використовували аналітичні стандарти (98,1-99,9) % чистоти. Послідовним розведенням вихідних розчинів готували 5 робочих градувальних розчинів та контрольний розчин кожної діючої речовини.

Хроматографічний аналіз розчинів досліджуваних сполук проводили на рідинних хроматографах

LC-10AS, LC-10AD та LC-20AD фірми Шимадзу (Японія) з ультрафіолетовим та флуоресцентним детектуванням. Після вибору оптимальних умов хроматографування здійснювали хроматографічний аналіз кожного градуовального розчину 3 рази для побудови графіків залежності площі хроматографічного піку сполуки від концентрації.

Правильність визначення досліджуваних діючих речовин в пробах зерна нуту перевіряли методом «внесено–знайдено». Ідентифікацію досліджуваної сполуки в екстрактах проб проводили за часом її утримування в градуовальних розчинах, кількісне визначення здійснювали методом абсолютного градування.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету статистичних програми IBM SPSS Statistics Base v.22 та MS Excel. При статистичному аналізі отриманих даних використано описативну статистику, кореляційний та регресійний аналізи. Значимість отриманих рівнянь регресії перевіряли за F-статистикою Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для досягнення мети було необхідно обрати метод, розробити умови якісної ідентифікації та кількісного визначення зазначених діючих речовин, а також умови підготовки зразків зерна нуту до аналізу.

Серед хроматографічних методів, які залишаються на даний час основним інструментом аналітичної хімії пестицидів, провідне місце за частотою використання займає високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [2, 3]. Найбільш активно при розробці нових методик визначення мікрокількостей пестицидів різних хімічних класів в об'єктах навколишнього та виробничого середовища, сільськогосподарській сировині та харчових продуктах використовують метод обернено-фазової ВЕРХ, який є найпоширенішим варіантом ВЕРХ [2].

Досліджувані діючі речовини – фунгіциди азоксистробін, тіабендазол, флудіоксоніл та гербіцид піридат – належать до різних хімічних класів (стробілуринів, бензімідазолів, фенілпіролів та фенілпіридазинів, відповідно). До того ж, метаболізм піридату в рослинах обумовлює необхідність визначення не лише піридату, а й його метаболіту – піридафолу. Враховуючи фізико-хімічні властивості азоксистробіну, тіабендазолу, флудіоксонілу, піридату та піридафолу, а саме: їх низьку леткість, молекулярну масу (< 3000), кращу розчинність в полярних розчинниках, ніж в неполярних, ми обрали серед усіх хроматографічних методів метод обернено-фазової ВЕРХ [2, 4].

Обернено-фазова хроматографія характеризується неполярним адсорбентом (нерухома фаза) та полярним елюентом (рухома фаза). Найпоширенішою нерухомою фазою є обернена фаза C18, яку застосовують для розділення як неполярних, так і полярних

водорозчинних сполук [5]. Так, для хроматографічного дослідження азоксистробіну та флудіоксонілу задовільною виявилася нерухома фаза Nucleosil (100-5) C18, яким була заповнена сталева колонка довжиною 25 см, внутрішнім діаметром 4,6 мм (250/4,6). Для аналізу тіабендазолу оптимальною виявилася нерухома обернена фаза C6H5, яку використовують для розділення ароматичних сполук. Тому визначення тіабендазолу проводили на Nucleosil (100-7) C6H5, яким була заповнена сталева колонка 250/4,6. Ще одна популярна нерухома фаза – CN – застосовується і як нормально-фазовий (CN), і як обернено-фазовий матеріал (CN-RP). Хроматографування піридафолу краще відбувалося на Nucleodur 100-5 CN-RP, яким була заповнена сталева колонка 250/4,6.

Для флудіоксонілу як рухома фаза використали суміш ацетонітрил–вода, для інших досліджуваних сполук краще підійшла суміш ацетонітрил+0,1 % водний розчин ортофосфорної кислоти у різних за об'ємом співвідношеннях.

В нашому дослідженні ми використовували ультрафіолетовий (УФ) детектор з дейтерієвою лампою. Оптимальне детектування азоксистробіну, флудіоксонілу та піридафолу відбувалося на довжині хвилі 260, 265 та 280 нм, відповідно. Враховуючи те, що тіабендазолу властива флуоресценція, і те, що чутливість флуоресцентного (ФЛ) детектора в 100 разів перевищує чутливість УФ детектора [2], для хроматографування тіабендазолу використали ФЛ детектор при довжині хвилі збудження та емісії – 300 та 350 нм, відповідно. Вибір елюенту обмежується типом детектора; зазначені вище рухомі фази задовольняють вимозі прозорості для УФ випромінювання [2].

Після підбору оптимальних умов якісної ідентифікації та кількісного визначення зазначених сполук були побудовані градуовальні залежності площі хроматографічних піків від концентрації у градуовальному розчині. Для цього в інжектор хроматографа з петлею 20 мкл вводили градуовальні розчини досліджуваних діючих речовин, починаючи з розчинів з максимальною концентрацією. Градуовальні залежності для кожної з досліджуваних сполук, що описані рівняннями лінійної регресії (табл. 1), було побудовано у відповідності до вимог міжнародного стандарту [6], коефіцієнти кореляції становили не менше 0,999.

Екстрагування діючої речовини з проби, очищення екстракту від супутніх домішок, концентрування, ідентифікація та кількісне визначення з застосуванням зовнішнього стандарту залишаються основними етапами методики визначення мікрокількостей пестицидів в сільськогосподарській продукції. Сучасні методичні вказівки повинні забезпечувати визначення аналізованої сполуки на рівні (70-120) %. Це підтверджують при розробці методики методом додавання стандартних розчинів до контрольних зразків об'єктів, що аналізуються [5, 7].

Розробка стадій підготовки проб зерна нуту до подальшого хроматографічного визначення в них досліджуваних сполук стала наступним етапом дослідження.

Основним способом вилучення пестицидів з різноманітних матриць залишається рідинна екстракція [8]. З метою кращого вилучення досліджуваних діючих речовин з зерна нуту випробовували різні екстрагенти та суміші. На підставі проведених досліджень з'ясовано, що для задовільного виділення з зерна нуту тіабендазолу підходить етилацетат; флудіоксонілу, піридату та піридафолу – ацетонітрил (для двох останніх при повторній екстракції корисно додати натрію хлорид); краща екстракція азоксистробіну відбувається сумішшю гексан+хлороформ (8+2, об+об). Отримані екстракти фільтрували через паперовий фільтр та сушили безводним натрію сульфатом; розчинник випаровували на ротаційному випарнику.

Отримані екстракти крім досліджуваної сполуки містять значну кількість супутніх домішок, які ускладнюють подальше хроматографічне визначення – призводять до появи сторонніх піків на хроматограмі та, отже, заважають її розшифруванню [5].

В сучасних методиках з визначення пестицидів, крім таких традиційних способів очищення, як перерозподіл у системі розчинників, що не змішуються, коагуляція та виморожування, все частіше використовують очищення за допомогою адсорбційної хроматографії. Це здійснюють або на колонках, що власноруч заповнюють певним сорбентом, або на картриджах для твердофазової екстракції. Останнє не лише результативно позбавляє від коекстрактивних речовин, але й дозволяє прискорити аналіз, зменшити використання органічних розчинників та трудові затрати, до того ж, асортимент застосовуваних на даний час картриджів дуже різноманітний. Іноді, щоб досягти більш низьких меж кількісного визначення без зменшення рівня надійності, при проведенні пробопідготовки використовують більш складний (багатостадійний) етап очищення екстрактів. Так, в методиці з визначення тіабендазолу достань було застосувати очищення способом перерозподілу в системі ацетонітрил–гексан, в методиках з визначення азоксистробіну та флудіоксонілу кращі результати були отримані при використанні колонок, заповнених власноруч флоризилом (умови кондиціонування колонки, внесення на неї екстракту проби та елюювання з колонки діючої речовини наведені в таблиці 2).

Розробка аналітичної методики, яка передбачає визначення не лише діючих речовин пестицидів, але і продуктів їх метаболізму, значно ускладнена: по-перше, екстрагування, очищення, хроматографічне розділення та детектування повинні охоплювати не лише діючу речовину, а й її метаболіти; по-друге, часто

існує необхідність отримання похідних або продуктів метаболізму діючої речовини.

Так, аналітична методика визначення піридату (як суми піридату та його метаболіту піридафолу) має деякі особливості пробопідготовки, хроматографічного детектування та кількісного визначення. Вона передбачає екстракцію піридату та його метаболіту піридафолу з зерна нуту, проведення гідролізу піридату з утворенням піридафолу, очищення за допомогою перерозподілу у системі розчинників, що не змішуються, з вилученням піридафолу, очищення за допомогою адсорбційної хроматографії та кількісне визначення методом обернено-фазової ВЕРХ з УФ детектуванням піридафолу з подальшим перерахунком на піридат (див. табл. 1, 2).

Оптимальні умови пробопідготовки зерна нуту та хроматографічного вимірювання в цій матриці досліджуваних діючих речовин наведені в таблицях 1 та 2. Вони покладені в основу методичних вказівок з визначення в зерні нуту азоксистробіну, флудіоксонілу, тіабендазолу та піридату (як суми піридату та піридафолу) з межами кількісного визначення 0,1; 0,1; 0,01 та 0,05 мг/кг, відповідно, та межами виявлення 0,03; 0,03; 0,003 та 0,02 мг/кг, відповідно. Розроблені методики забезпечують визначення аналізованих сполук на необхідному рівні (міра правильності знаходиться в діапазоні (72-75) %); наведені межі кількісного визначення дозволяють контролювати встановлені гігієнічні нормативи.

У натурних дослідженнях, що були проведені в рамках державних випробувань препаратів Максим Адванс 195 FS, ТН, Лентагран 600, КЕ та Кустодія, КС для захисту нуту в різних кліматичних зонах України (Полісся, Лісостеп, Степ) встановлено, що в зерні на момент збору урожаю залишкові кількості досліджуваних діючих речовин були меншими за відповідну межу виявлення.

ВИСНОВКИ

Розроблені методики визначення азоксистробіну, флудіоксонілу, тіабендазолу та піридату в зерні нуту методом високоефективної рідинної хроматографії є високочутливими та дозволяють контролювати встановлені гігієнічні нормативи, отримувати достовірну та репрезентативну інформацію щодо вмісту залишків пестицидів, що є необхідною передумовою оцінки ризику застосування хімічних засобів захисту рослин.

Упровадження розроблених методик в практику роботи установ Держпродспоживслужби та Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України сприятиме вдосконаленню моніторингу пестицидів у довкіллі та проведенню заходів з мінімізації їх шкідливої дії на здоров'я населення.

Умови визначення азоксистробіну, флудіоксонілу, тіабендазолу та піридафолу методом високоефективної рідинної хроматографії

Характеристика методу визначення	Умови хроматографування			
	азоксистробін	флудіоксоніл	тіабендазол	піридафол
Детектування	УФ детектор, 260 нм	УФ детектор, 265 нм	ФЛ детектор, збудження – 300 нм, емісія – 350 нм	УФ детектор, 280 нм
Нерухома фаза, розмір колонки	Nucleosil (100-5) C ₁₈ (250/4,6)	Nucleosil (100-5) C ₁₈ (250/4,6)	Nucleosil (100-7) C ₆ H ₅ (250/4,6)	Nucleodur 100-5 CN-RP (250/4,6)
Рухома фаза	ацетонітрил + 0,1 % водний р-н Н ₃ РO ₄ (55+45, об+об)	ацетонітрил + вода (65+35, об+об)	ацетонітрил + 0,1 % водний р-н Н ₃ РO ₄ (30+70, об+об)	ацетонітрил + 0,1 % водний р-н Н ₃ РO ₄ (40+60, об+об)
Об'ємна витрата рухомої фази, мл/хв	1	1	0,8	1
Об'єм, що піддається хроматографічному аналізу, мкл	20	20	20	20
Температура колонки, °С	30	30	кімнатна	30
Час утримування, хв	9,7±0,1	6,1±0,1	3,9±0,1	4,9±0,1
Залежність площі хроматографічного піку (ум. од.) від концентрації у градувальному розчині (ρ, мкг/мл)	S = 93,6+34484,4×ρ	S = 298,6+53271,5×ρ	S = -6437,2+1,2×ρ	S = 35,9+36288,6×ρ
Межа кількісного визначення в зерні нуту, мг/кг	0,1	0,1	0,01	0,05

Таблиця 2

Умови пробопідготовки зерна нуту до визначення азоксистробіну, флудіоксонілу, тіабендазолу та піридафолу

Етапи пробопідготовки	Умови пробопідготовки до визначення			
	азоксистробін	флудіоксоніл	тіабендазол	піридат (як сума піридафолу та піридафолу)
Екстракція	суміш гексан + хлороформ (8+2, об+об)	ацетонітрил	етилацетат	ацетонітрил з додаванням NaCl
	фільтрування через паперовий фільтр, підсушування безводним Na ₂ SO ₄ та упарювання розчинника на ротаційному випарнику			
«Нетрадиційний» етап ¹	гідроліз піридафолу з утворенням метаболіту – піридафолу: при рН (11–12) впродовж 60 хвилин при кімнатній температурі; попереднє очищення: при рН (2–3) за допомогою перерозподілу у системі розчинників, що не змішуються, з вилученням піридафолу дихлорметаном; підсушування безводним Na ₂ SO ₄ та упарювання розчинника на ротаційному випарнику			
Очищення	колонка Florisil (FL-PR) ² кондиціонування колонки – гексаном; внесення екстракту та елюювання д.р. – сумішшю гексан+ацетон (8+2, об+об)	колонка Florisil (FL-PR) ² кондиціонування колонки, внесення екстракту та елюювання д.р. – сумішшю гексан+ацетон (9+1, об+об)	перерозподіл у системі розчинників, що не змішуються (ацетонітрил–гексан), з вилученням д.р. ацетонітрилом	Strata™-X-AW 33 мкм Polymeric Weak Anion кондиціонування картриджу, внесення екстракту та промивання картриджу – метанолом; елюювання сполуки – 1 % розчином аміаку в метанолі
Концентрування	упарювання розчинника на ротаційному випарнику			
Підготовка проби до вводу в хроматограф	розчинення сухого залишку в ацетонітрилі (для піридафолу – в суміші ацетонітрил + 0,1 % водний розчин Н ₃ РO ₄ (40+60, об+об)) та проведення хроматографічного аналізу			

Примітки: 1 – стосується методики визначення піридафолу;

2 – колонка, заповнена власноруч Florisil (FL-PR), 200 мкм, фірма Феноменекс.

REFERENCES

1. Kalenskaya SM, Novitskaya NV, Netupskaya IT. [The formation of the chickpea crop under the influence of elements of cultivation technology]. Bulletin of the Poltava State Agrarian Academy. 2012; 2: 21-5. [in Ukrainian] DOI: 10.31210/visnyk2012.02.03
View at: Publisher site: <http://journals.pdaa.edu.ua/visnyk/article/view/542>
URL: <https://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/visnyk/2012/02/021.pdf>
2. Stolyarov BV, Savinov IM, Wittenberg AG et al. [Practical gas and liquid chromatography: textbook]. St. Petersburg: Publishing house of St. Petersburg. un-ta, 1998. 612 p. [in Russian]
View at:
Publisher site: <https://www.twirpx.com/file/177874/>
3. Kudris I.V., Kulikov A.Yu. [Evaluation of the variability of the relative retention times when using chromatographic columns grafted with C18 groups]. Methods for detecting chemistry analysis. 2014;9(1): 12-8. [in Russian]
View at: Publisher site:
PubMed: http://nbuf.gov.ua/UJRN/Moca_2014_9_1_4
URL: <http://chembull.univer.kharkov.ua/archiv/2014/09.pdf>
4. The PPDB A to Z List of Pesticide Active Ingredients. Pesticide Properties University of Hertfordshire
View at: Publisher site: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>
5. Klisenko MA, Alexandrova LG, Demchenko VF, Makarchuk TL Analytical chemistry of pesticide residues: textbook. Kyiv: ECOGINTOX, 1999. 238 p. [in Ukrainian]
6. International standard ISO 0 8466-1: 1990 (E). [Water quality - Calibration and evaluation of analytical methods to determine performance. Part 1: Statistical processing of a linear calibration function]. 10 p. [in Russian]
View at: Publisher site: https://standartgost.ru/g/ISO_8466-1:1990
7. [On the use of norms of accuracy and correctness of measurements in the control of the content of chemicals in food raw materials, food and environmental objects and the correspondence between the values of MDR and MPC and the limits of analytical determination of chemicals] / Resolution of the Ministry of Health of Ukraine № 20 of April 20, 1999. [in Ukrainian]
8. Bublik LI, Gavrilyuk LL. Methods of monitoring and control of pesticide residues in agrocenoses. Plant protection and quarantine. 2014; 60.: 53-66. [in Ukrainian]
View at: PubMed: http://nbuf.gov.ua/UJRN/Zikr_2014_60_9

Article history
Received: 13.05.2021
Revision requested: 29.05.2021
Revision received: 09.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЗА ПРИМЕНЕНИЕМ ПЕСТИЦИДОВ В СИСТЕМЕ ХИМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ НУТА

Коршун О.М., Ліпавська А.А., Мілохов Д.С., Аврамчук А.А., Омельчук С.Т.

*Институт гигиены и экологии Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца,
Киев, Украина*

lab_chrom@ukr.net

Актуальность. На сегодняшний день отсутствуют утвержденные в Украине методики определения в зерне нута азоксистробина, тиабендазола, флудиоксонила и пиридата. Поэтому существует необходимость научного обоснования выбора метода, разработки условий пробоподготовки зерна нута, качественной идентификации и количественного определения в этой матрице действующих веществ пестицидных препаратов, входящих в систему защиты нута. Это позволит контролировать установленные гигиенические нормативы пестицидов и минимизировать их негативное влияние на здоровье населения и окружающую среду.

Цель: разработать методики определения в зерне нута азоксистробина, тиабендазола, флудиоксонила и пиридата.

Материалы и методы. Хроматографический анализ проводили на жидкостных хроматографах фирмы Шимадзу (Япония) с использованием ультрафиолетового и флуоресцентного детектирования.

Для статистической обработки результатов использовали пакет статистических программ IBM SPSS StatisticsBase v.22 и MS Excel.

Результаты. Разработанные нами оптимальные условия пробоподготовки зерна нута и хроматографического определения азоксистробина, флудиоксонила, тиабендазола и пиридата (как суммы пиридата и его метаболита – пиридафола) с пределами количественного определения 0,1; 0,1; 0,01 и 0,05 мг/кг, соответственно, обеспечивают определение анализируемых соединений на необходимом уровне (мера правильности составляет (72–75) %) и позволяют контролировать установленные гигиенические нормативы этих соединений в зерне нута.

Выводы. Разработанные методики определения азоксистробина, флудиоксонила, тиабендазола и пиридата в зерне нута методом высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяют контролировать установленные гигиенические нормативы, получать репрезентативную информацию относительно содержания остаточных количеств пестицидов, что является условием оценки риска использования химических средств защиты растений.

Ключевые слова: пестициды, зерно нута, предел количественного определения, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

IMPROVEMENT OF THE ANALYTICAL CONTROL FOR APPLICATION OF PESTICIDES IN THE SYSTEM OF CHEMICAL PROTECTION OF CHICKPEA

Korshun O.M., Lipavska A.O., Milokhov D.S., Avramchuk A.O., Omelchuk S.T.

Institute of Hygiene and Ecology of Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

lab_chrom@ukr.net

Relevance. To date, there are no approved methods in Ukraine for the determination of azoxystrobin, thiabendazole, fludioxonil and pyridate in grain chickpeas. Therefore, there is a need for scientific substantiation of the method selection, the development of conditions for sample preparation of chickpea grain, qualitative identification and quantification of pesticides in this matrix used in protection system of chickpea was given in the article, which will allow to control the established hygienic standards of pesticides and minimize pesticide negative impact on population health and the environment.

Objective of the research is to develop methods for the determination of azoxystrobin, thiabendazole, fludioxonil and pyridate in grain chickpea.

Materials and methods. Chromatographic analysis was performed by Shimadzu (Japan) liquid chromatographs using ultraviolet and fluorescent detection.

The package of IBM SPSS StatisticsBase v.22 and MS Excel statistical programs was used for statistical processing of results.

Results. Optimal conditions of sample preparation of chickpea grain and chromatographic determination of azoxystrobin, fludioxonil, thiabendazole and pyridate (as the sum of pyridate and its metabolite – pyridafol) with the limits of quantitative determination of 0.1; 0.1; 0.01 and 0.05 mg/kg, respectively, were developed to provide the determination of the analyzed compounds at the required level (the measure of correctness is (72–75)%) and the control of the established hygienic standards of these compounds in chickpea grain.

Conclusions. Developed methods for determination of azoxystrobin, fludioxonil, thiabendazole and pyridate in chickpea grain by high-performance liquid chromatography allow to control the established hygienic standards, to obtain representative information on the content of pesticide residues, which is a prerequisite for risk assessment of plant protection products.

Keywords: pesticides, chickpea grain, limit of quantification, high performance liquid chromatography (HPLC).

Етіологія та патогенез раку гортаноглотки: генетичні та імунологічні фактори розвитку. Огляд

Гринь Н.В. <https://orcid.org/0000-0003-0970-3194>

Бурлака Ю.Б. <https://orcid.org/0000-0003-0821-4268>

ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка», Київ, Україна

burlakaiuliia@yahoo.com

Актуальність. Злоякісні новоутворення гортаноглотки є однією з актуальних і соціально значущих проблем в сучасній онкології і однією з найбільш частих локалізацій серед органів голови і шиї. Важливим фактором, що впливає на високу частоту випадків у популяції, є безсимптомний перебіг хвороби, у зв'язку з чим хворі звертаються до спеціалізованих установ з уже поширеним пухлинним процесом.

Ціль: узагальнити та систематизувати дані літератури щодо етіології та патогенезу раку гортаноглотки.

Методи. Аналіз наукових публікацій в міжнародних електронних наукометричних базах даних Scopus, PubMed за ключовими словами. Глибина пошуку – 20 років (2001-2020 рр.).

Результати. В останні роки погляд на механізми розвитку канцерогенезу кардинально змінився, пухлина більше не розглядається як маса злоякісних клітин, а скоріше як самодостатня біологічна структура зі складним мікрооточенням, в яке залучені інші субпопуляції клітин, пошкоджені раковими. Стромальний компонент мікрооточення пухлини складається з різних типів клітин, таких як асоційовані з раком фібробласти, нейтрофіли, макрофаги, регуляторні Т-клітини, мієлоїдні клітини-супресори, НК-клітини тощо. Ці субпопуляції клітин взаємодіють один з одним, а також з раковими клітинами. Крім того, одним з перспективних напрямків в створенні панелі маркерів ризику розвитку раку гортаноглотки можуть виступати ампліфікація, делеція, втрата гетерозиготності, а також поліморфізм деяких генів, які безпосередньо беруть участь в клітинному циклі або виступають у ролі регуляторів посттранскрипційних модифікаторів їх продуктів на ранніх етапах канцерогенезу.

Висновки. Мікрооточення пухлини складається з безлічі різних популяцій клітин. Ці частини навколишньої стромы можуть функціонувати як позитивні, так і негативні регулятори всіх ознак розвитку раку, включаючи ухилення від апоптозу, індукцію ангиогенезу, дерегуляцію енергетичного метаболізму, стійкість до виявлення і руйнування імунною системою, а також активацію інвазії та метастазування. Дослідження відмінностей у складі мікрооточення пухлини при ПРГГ і їх вплив на розвиток і прогресування раку може допомогти краще зрозуміти механізми, що лежать в основі різних відповідей на терапію, а отже допомагають визначити можливі цілі для клінічного втручання.

Ключові слова: рак гортаноглотки, етіологія та патогенез раку гортаноглотки, генетичні та імунологічні фактори розвитку раку гортаноглотки.

Актуальність. Злоякісні новоутворення гортаноглотки є однією з актуальних і соціально значущих проблем в сучасній онкології і однією з найбільш частих локалізацій серед органів голови і шиї. Важливим фактором, що впливає на високу частоту випадків у популяції, є безсимптомний перебіг хвороби, у зв'язку з чим хворі звертаються до спеціалізованих установ з уже поширеним пухлинним процесом [1, 2]. Залишаються незадовільними і віддалені результати лікування цих пацієнтів, оскільки 5-річна виживаність при III стадії пухлинного процесу не перевищує 50 %, а при IV – 30 % [1]. Тому є актуальним подальше вивчення і всебічний аналіз зазначеної проблеми.

Ціль: узагальнити та систематизувати дані літератури щодо етіології та патогенезу раку гортаноглотки.

МЕТОДИ

Аналіз наукових публікацій в міжнародних електронних наукометричних базах даних Scopus, PubMed за ключовими словами. Глибина пошуку – 20 років (2001-2020 рр.).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Плоскоклітинний рак гортаноглотки (ПРГГ) зустрічається в 95 % випадків злоякісних пухлин гортаноглотки. Злоякісна трансформація проходить в базальних клітинах у вигляді гіперплазії, низько- та високо диференційованої дисплазії та мікроінвазивної карциноми. Дисплазія виникає як наслідок молекулярної альтерації [3, 4]. Інвазивна плоскоклітинна карцинома звичайного типу є найпоширенішим гістологічним типом злоякісних пухлин голови та шиї. Однак існує ряд її гістологічних варіантів, які характеризуються специфічними гістоморфологічними ознаками та/або унікальною біологічною поведінкою. Найбільш поширені варіанти плоскоклітинної карциноми є папілярний плоскоклітинний рак (8052/3), веррукозна форма раку (8051/3), веретеноклітинна плоскоклітинна (8074/3) і базалоїдна плоскоклітинна карциноми (8083/3), плоскоклітинний аденоїдний (8075/3), лімфоепітеліальний (8082/3) та залозисто-плоскоклітинний рак (8082/3) [5].

На даний момент не визначені параметри включення осіб до групи ризику по розвитку раку цієї

локалізації, не налагоджена система динамічного контролю за групою хворих з підвищеним ризиком його виникнення. Відсутні адекватні заходи безпеки на підприємствах, чия діяльність пов'язана з впливом шкідливих та потенційно канцерогенних речовин. Онкологічна служба не має в своєму розпорядженні чітких молекулярно-генетичних критеріїв оцінки і діагностичних/прогностичних маркерів ризику, що дозволяють проводити ранню діагностику раку гортаноглотки і здатні прогнозувати перебіг злоякісного захворювання [1].

Численними епідеміологічними дослідженнями було показано, що індукторами трансформації епітелію гортаноглотки є тютюнопаління та зловживання спиртними напоями [1, 6, 7]. Встановлено, що нікотин не є канцерогеном, але поліциклічні ароматичні вуглеводні та нітрозаміни, які виділяються при тлінні тютюну, сприяють розвитку раку гортаноглотки. Погане харчування і гігієна порожнини рота, дефіцит вітамінів, цироз печінки і супресія імунної системи часто зустрічається у алкоголіків і можуть також сприяти розвитку онкологічного процесу [6, 7].

Факторами ризику розвитку раку гортаноглотки також вважають лейкоплакію слизової оболонки гортаноглотки, дискератози, пахідермію, фіброму, а також ряд хронічних запальних захворювань. До важливих етіологічних факторів також належить гастроєзофагеальний рефлюкс, анатомічні вади розвитку, анемія Фанконі, термічні опіки, вплив іонізуючого випромінювання, та ряд отруйних хімічних речовин, таких як азбест, нікель, формальдегід, вінілхлорид, бензопірени тощо [7, 8].

Крім того, останні роки все більшу увагу вчених привертає вірусна теорія канцерогенезу слизової гортаноглотки, що пов'язана з частим виявленням послідовностей геному та протеїнів онкогенних вірусів папіломи людини і Епштейна-Барр, як в патологічно змінених, так і в морфологічно нормальній слизовій оболонці хворих передпухлинними захворюваннями і раком [9-11].

Одним з перспективних напрямків в створенні панелі маркерів ризику розвитку раку гортаноглотки можуть виступати ампліфікація, делеція, втрата гетерозиготності, а також поліморфізм деяких генів, які безпосередньо беруть участь в клітинному циклі або виступають у ролі регуляторів посттранскрипційних модифікаторів їх продуктів на ранніх етапах канцерогенезу [1].

З метою пошуку маркерів ризику розвитку раку гортаноглотки проводили аналіз втрати гетерозиготності генів-регуляторів клітинного циклу і онкосупресорів, делеція яких може ініціювати процес малігнізації. Встановлено, що втрата гетерозиготності такими сайтами, як 3p, 3q, 5q12-23, 8p22-p238q, 11q13, зустрічається в декілька разів частіше у хворих зі злоякісними новоутвореннями, порівняно з па-

цієнтами з доброякісними пухлинами [12]. Також було виявлено, що втрата гетерозиготності у хворих на ПРГГ асоційована з розповсюдженням пухлинного процесу та низьким ступенем диференціювання пухлини, тобто з несприятливим прогнозом [13].

У пухлинній та морфологічно зміненій тканинах хворих на злоякісні новоутворення голови та шиї встановлено значне підвищення рівня експресії гену NF- κ B та мітоген-активованої протеїнкінази (Ki-67) [14-16]. Крім того, відзначена асоціація рівня експресії цих генів з цілою низкою клінічно значущих параметрів, таких як лімфогенне метастазування, стадія захворювання, а також загальна виживаність хворих, у яких було виявлено цей феномен. Проведений авторами регресійний аналіз підтвердив можливість використання підвищеного рівня експресії гену NF- κ B в якості незалежного фактора прогнозу загального виживання хворих на рак гортаноглотки [18-20], і вважається, що Ki-67 може бути надійним маркером радіорезистентності вищевказаного типу пухлини [21].

Дослідженнями ряду авторів [22-24] було встановлено кореляцію між рівнем Ki-67 і експресією цикліну D1 при ПРГГ. Більшість дослідників вважає експресію цикліну D1 маркером агресивного перебігу пухлини і пропонує враховувати ці дані для оптимізації схем лікування [22, 25, 26].

У канцерогенезі раку гортаноглотки також відіграє роль регуляторний протеїн p53. Мутація гену TP53 виявляється у 42 % хворих ПРГГ, а надекспресія протеїну p53, за даними різних досліджень, виявляється у 36-68 % випадків [22, 27-29]. Загальноприйнято є точка зору про важливість регуляторного протеїну p53 для канцерогенезу, а от єдина думка про його клінічне і прогностичне значення досі відсутня. Деякі автори виявляють кореляцію між експресією p53 і ступенем диференціювання пухлини, а також рівнем Ki-67. Коекспресія p53 і рівня Ki-67 понад 55 % є фактором несприятливого прогнозу, пов'язаного з наявністю метастазів в регіонарних лімфовузлах, розвитком рецидиву захворювання, низьким специфічним і безрецидивним виживанням [22, 30].

У якості критерію прогнозування відповіді на терапію препаратами платини у хворих на плоскоклітинний рак голови та шиї важливим і найбільш часто використовуваним тестом виступає оцінка рівня експресії протеїну Bcl-2, що належить до родини антиапоптотических протеїнів. Відомо, що одні протеїни цієї родини (Bax, Bak, Bad, Bid) є індукторами апоптозу, а інші – його антагоністами (Bcl2 та Bcl-x). При цьому пухлинний супресор – p53 на транскрипційному рівні здійснює одночасно активацію індукторів та репресію антагоністів апоптозу [31, 32]. Рівень синтезу протеїну Bcl2 при ПРГГ є важливим прогностичним фактором, який корелює із ступенем диференціювання, розміром пухлини, регіонарним метастазуванням, раннім роз-

витком рецидивів та підвищеною резистентністю до цисплатину [1, 31, 33-36].

Відомо, що ген p53 впливає на пухлинний ангиогенез через регуляцію фактора росту ендотелію судин – VEGF. У неопластичних клітинах гени VEGF експресуються під впливом мутованих онкогенів родини RAS. У результаті такої експресії посилюється міграція та адгезія ендотеліальних клітин, що стимулює ангиогенез. Враховуючи важливе значення неоангіогенезу, як основного процесу для росту та метастазування пухлини, в якості неспецифічного прогностичного показника онкозахворювання можна використовувати експресію гена VEGF. При цьому високий рівень його експресії достовірно погіршує прогноз перебігу онкологічного захворювання [22, 37-39].

В останні роки погляд на механізми розвитку канцерогенезу кардинально змінився, пухлина більше не розглядається як маса злоякісних клітин, а скоріше, як самодостатня біологічна структура зі складним мікрооточенням, в яке залучені інші субпопуляції клітин, пошкоджені раковими. Стромальний компонент мікрооточення пухлини складається з різних типів клітин, таких як асоційовані з раком фібробласти, нейтрофіли, макрофаги, регуляторні Т-клітини, мієлоїдні клітини-супресори, НК-клітини, тромбоцити і тучні клітини. Ці субпопуляції клітин взаємодіють один з одним, а також з раковими клітинами за допомогою цитокінів, хемокінів, факторів росту і білків позаклітинного матриксу [40].

Асоційовані з раком фібробласти (CAFs) є переважаним типом клітин в стромі пухлини, і їх основна функція полягає в підтримці сприятливого мікрооточення для росту і проліферації пухлинних клітин. CAF модулюють мікрооточення за рахунок секреції факторів росту, таких як епідермальний фактор росту (EGF), фактор росту гепатоцитів (HGF) та ендотелію судин, а також цитокінів і хемокінів. Хемокінові ліганди (мотив CXC) – CXCL12 і CXCL14 та (мотив CC) – CCL5 і CCL7, а також інтерлейкіни (IL) – IL-6 і IL-17A [41-46]. CAF також є важливими продуцентами матриксних металопротеїназ (MMP) а, отже, відіграють важливу роль в модуляції мікрооточення шляхом ремоделювання і деградації позаклітинного матриксу (ECM), що призводить до розвитку інвазивного фенотипу ракових клітин [47-49]. Таким чином, всі ці речовини сприяють розвитку пухлини, оскільки необхідні для проліферації пухлинних клітин, ангиогенезу, інвазії, запалення, метастазування та лікарської резистентності.

Макрофаги вважають одними з найбільш важливих імунних клітин, головним чином, через їх активну роль в гомеостазі тканин, а також вродженій та набутій імунній відповіді [50]. Вони демонструють велику пластичність і представлені двома різними фенотипами, які характеризуються різною експресією рецепторів, функціями і продукуванням цито-

кінів та хемокінів [51-52]. «Прозапальні» класично активовані макрофаги беруть участь у протипухлинному імунитеті, впливаючи на відповідь Т-хелперу типу 1 (Th1) на інфекцію, інгібують проліферацію і проявляють цитотоксичну активність [53, 54]. «Противапальні» альтернативно активовані макрофаги відіграють імунорегуляторну роль і беруть участь у ремоделюванні тканин, загоєнні ран, ангиогенезі і прогресуванні пухлини [55-57].

Пухлино-асоційовані макрофаги (TAMs) – група у популяції макрофагів, що в значній мірі сприяє проліферації, інвазії і метастазуванню злоякісного новоутворення, шляхом пригнічення протипухлинної імунної відповіді Т-клітин. Рядом досліджень було встановлено кореляцію між рівнем інфільтрації TAMs і поганим прогнозом у хворих на ПРГГ. Отже, цей показник можна використовувати в якості потенційного прогностичного маркера [58-60].

Нейтрофіли, або поліморфноядерні лейкоцити (PMNs), є важливими ефекторними клітинами вродженого імунітету. Встановлено, що PMNs здатні утворювати позаклітинні пастки нейтрофілів (NETs), вивільняючи свої цитотоксичні цитозольні і гранулярні протеїни на каркас з неконденсованого хроматину в процесі загибелі клітин, що отримав назву NETosis [61-63]. Відомо також, що NETs активують тромбоцити і сприяють тромбозу. Підвищений ризик венозної тромбоемболії був виявлений при багатьох типах раку, включаючи ПРГГ [64-66].

Внесок нейтрофілів, асоційованих з пухлиною (TANs) в прогресування раку, залишається нез'ясованим, оскільки вони проявляють як про-, так і протипухлинні властивості. У TANs, за аналогією з TAMs, також спостерігається подвійність фенотипу в формі станів поляризації [67]. Пропухлинний фенотип характеризується підвищеною експресією факторів, що сприяють ангиогенезу і інвазії, зокрема CXCR4, VEGF та MMP-9 за відсутності інтерферону- β (IFN- β). Не менш важливим фактором для індукції TANs, з цим типом фенотипу, у мікрооточенні пухлини є трансформуючий фактор росту- β (TGF- β) [67, 68]. Однак ці нейтрофіли можуть повернутися до цитотоксичного фенотипу при блокуванні TGF- β або у присутності IFN- β , експресуючи при цьому високі рівні молекули міжклітинної адгезії 1 (ICAM1) і фактору некрозу пухлини (TNF- α), а також збільшуючи формування NETs [69].

Мієлоїдні клітини-супресори (MDSCs) є гетерогенною популяцією незрілих інгібуючих імунних клітин на різних стадіях мієлопоезу. Ця популяція клітин відіграє вирішальну роль у негативній регуляції імунної відповіді при багатьох патологічних станах, таких як рак та запалення, пригнічуючи як адаптаційний, так і вроджений імунітет. MDSCs індукуються різними факторами в мікрооточенні пухлини, такими як гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулю-

ючий фактор (GM-CSF), VEGF та IL-6 [70]. Вони модулюють запалення за рахунок виснаження багатьох амінокислот (зокрема L-аргініну, L-триптофану і L-цистеїну), збільшення продукування оксиду азоту, активних форм кисню, індукцельної NO-синтази та аргінази-1, а також за допомогою експресії ліганда рецептора запрограмованої смерті 1 (PD-L1), який інгібує активацію та проліферацію Т-клітин і призводить до їх загибелі шляхом апоптозу [71-74]. MDSCs також регулюють активність NK-клітин та індукцію імуносупресивних регуляторних Т-клітин, стимулюють ангиогенез шляхом продукування проангіогенних факторів. Вони також сприяють деградації ЕСМ шляхом продукування значних рівнів MMPs, особливо MMP-9, та утворенням преметатсатичних ніш [40, 75-77].

Мастоцити (MCs) – є мієлоїдним компонентом імунної системи, який сприяє як вродженій, так і набутій імунній відповіді. Їх активація опосередкована перехресним зв'язуванням рецептора IgE (FcεRI), який експресується на їх поверхні, що призводить до вивільнення з гранул, в позаклітинний простір, ряду речовин. Крім того MCs можуть селективно вивільняти свій вміст за допомогою часткової дегрануляції. Вона була виявлена у ділянках хронічного запалення та пухлинах і є кращим секреторним шляхом для асоційованих з пухлиною мастоцитів (TAMCs) [40, 78].

TAMCs можуть відігравати як про-, так і проти-пухлинну роль у розвитку раку. Їх функції, що сприяють розвитку пухлини, включають ангиогенез за рахунок продукції VEGF та фактору росту фібробластів-2 (FGF-2) [40], деградацію ЕСМ внаслідок продукції MMP і різних протеаз, що призводить до інвазії і міграції пухлинних клітин [79], і індукція проліферації пухлинних клітин шляхом продукування гістаміну [80]. Крім того, мастоцити продукують безліч хемотаксичних факторів, щоб залучити у пухлину інші імунні клітини [81, 82]. Навпаки, в деяких типах пухлин було виявлено супресивні пухлинні ефекти TAMCs, в основному за рахунок підтримки відторгнення пухлини, опосередковуючи апоптоз клітин пухлини внаслідок продукції IL-4 і TNF-α [40, 83].

Природні клітини-кілери (NK-клітини) – компоненти системи вродженого імунітету і є великими гранулярними CD3-лімфоцитами, які можна розділити на дві підгрупи, в залежності від рівнів експресії їх поверхневих маркерів CD16 і CD56. Їх основна функція – виявляти і знищувати інфіковані вірусом або злоякісні клітини. Субпопуляція CD56dim/CD16bright становить приблизно 90 % всіх NK-клітин периферичної крові, характеризується більш високими рівнями експресії безлічі імуномодулюючих цитокінів та відповідальна за високу природну цитотоксичність [40]. Найбільш відомими цитокінами, які секретуються NK-клітинами, є IFN-γ і TNF-α, а також такі важливі фактори як GM-CSF, IL-5, IL-8,

IL-10, IL-13, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 і CXCL10 [40, 84]. Функція NK-клітин жорстко регулюється співвідношенням сигналів від активуючих та інгібуючих рецепторів, присутніх на поверхні клітини. Молекули власного МНС класу I, експресуються на здорових клітинах, діють як гальмуючі стимули, що запобігають активації NK-клітин [85]. Злоякісні або інфіковані вірусом клітини пригнічують експресію МНС-I, щоб уникнути цитотоксичних Т-клітин; однак це призводить до їх розпізнавання NK-клітинами. Крім того, активуючі рецептори на поверхні клітин-мішеней активуються у відповідь на злоякісну трансформацію [86]. За активацією NK-клітин відбувається ряд можливих індукцій апоптозу клітинами-мішенями, включаючи екзоцитоз перфोरину і гранзимів, Fas ліганда (FasL), активації TNF-пов'язаного апоптоз-індукуючого ліганда (TRAIL) або анти-тіло-залежної клітинної цитотоксичності (ADCC) [40, 87]. На відміну від цитотоксичних Т-клітин, NK-клітини не вимагають попередньої сенсibiliзації або стимуляції для їх ефекторної функції.

ВИСНОВОК

Таким чином, мікрооточення пухлини складається з безлічі різних популяцій клітин. Ці частини навколишньої стромы можуть функціонувати як позитивні, так і негативні регулятори всіх ознак розвитку раку, включаючи ухилення від апоптозу, індукцію ангиогенезу, дерегуляцію енергетичного метаболізму, стійкість до виявлення і руйнування імунною системою, а також активацію інвазії та метастазування. Дослідження відмінностей у складі мікрооточення пухлини при ПРГГ і їх вплив на розвиток і прогресування раку може допомогти краще зрозуміти механізми, що лежать в основі різних відповідей на терапію, а отже допомагають визначити можливі цілі для клінічного втручання.

REFERENCES

1. Shilova OYu, Urazova LN. [Molecular genetic methods for the prognosis and course of laryngeal cancer]. Siberian Journal of Oncology. 2010;5(41):64-70. [in Russian]. View at: Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarno-geneticheskie-metody-prognoza-i-techeniya-raka-gortani>
2. Paches A.I. [Tumors of the head and neck]. Moscow: Medicine, 2013. 478p. [in Russian]. View at: Publisher site: <https://www.mmbook.ru/catalog/onkologija/106421-detail>
3. Hulst AM, Kroon W, Linden ES, Nagtzaam L, Ottenhof SR, Wegner I, Gunning AC, Grolman W, Braunius W. Grade of dysplasia and malignant transformation in adults with premalignant laryngeal lesions. Head Neck. 2016;38(1):2284-90. DOI: [org/10.1002/hed.24185](https://doi.org/10.1002/hed.24185). View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hed.24185>

4. Ali SA, Smith JD, Hogikyan ND. The white lesion, hyperkeratosis and dysplasia. *Otolaryngol Clin North Am.* 2019;52(4):703-12. DOI: 10.1016/j.otc.2019.03.014.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0030666519300556?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31078307/>
5. Wenig BM. Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: dysplasia and select variants. *Modern Pathology.* 2017;30:112-8. DOI: 10.1038/modpathol.2016.207.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/modpathol2016207>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28060368>
6. Brennan JA., Boyle JO, Koch WM, Goodman SN, Hruban RH, Eby YJ, Couch MJ, Forastiere AA, Sidransky D. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *N. Engl. J. Med.* 1995;332(11): 712-7. DOI: 10.1056 / NEJM199503163321104.
View at: Publisher site: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199503163321104>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7854378/>
7. Gillison ML. Current topics in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Head Neck.* 2007;29(8):779-92. DOI: 10.1002/hed.20573.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hed.20573>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/17230556>
8. Mastronikolis NS, Papadas TA, Goumas PD., Triantaphyllidou I-E, Theocharis A, Papageorgakopoulou N, Vynios DH. Head and neck: Laryngeal tumors: an overview. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2009;13(11): 888-93. DOI: 10.4267/2042/44625.
9. Shilova OYu. [Association of laryngeal cancer with human papillomaviruses and Epstein-Barr viruses]. *Siberian Journal of Oncology.* 2007;2;126-7. [in Russian].
View at: Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/assotsiatsiya-raka-gortani-s-virusami-papillomycheloveka-i-epshteyna-barr>
10. Fakhry C, Gillison ML. Clinical Implications of Human Papillomavirus in Head and Neck Cancers. *J. Clin. Oncol.* 2006;24(17):2606-11. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.1291.
View at: Publisher site: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2006.06.1291>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16763272/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4696042/>
11. Tran N, Rose BR, O'Brien CJ. Role of human papillomavirus in the etiology of head and neck cancer. *Head Neck.* 2007;29(1):64-70. DOI: 10.1002/hed.20460.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hed.20460>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16823878/>
12. Abou-Elhamd KE, Habib TN. The role of chromosomal aberrations in premalignant and malignant lesions in head and neck squamous cell carcinoma. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2008;265(2):203-7. DOI: 10.1007/s00405-007-0420-z.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00405-007-0420-z>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17701417/>
13. El-Naggar AK, Steck K, Batsakis JG. Heterogeneity of the proliferative fraction and cyclin D1/CCND1 gene amplification in head and neck squamous cell carcinoma. *Cytometry.* 1995;21(1):47-51. DOI: 10.1002/cyto.990210110
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cyto.990210110>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8529470/>
14. Allen CT, Ricker JL, Chen Z, Van Waes C. Role of activated nuclear factor-kappa B in the pathogenesis and therapy of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck.* 2007;29(10):959-71. DOI: 10.1002/hed.20615.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hed.20615>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/17405170>
15. Lee TL, Yeh J, Friedman J, Yan B, Yang X, Yeh NT, Waes CV, Chen Z. A signal network involving coactivated NF-kappa B and STAT3 and altered p53 modulates BAX/BCL-XL expression and promotes cell survival of head and neck squamous cell carcinomas. *Int. J. Cancer.* 2008;122(9):1987-98. DOI: 10.1002/ijc.23324.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.23324>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18172861/>
16. Lothaire P, de Azambuja E, Dequanter D, Lalami Y, Sotiriou C, Andry G, Castro G, Awada A. Molecular markers of head and neck squamous cell carcinoma: promising signs in need of prospective evaluation. *Head Neck.* 2006;28(3):256-69. DOI: 10.1002/hed.20326.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hed.20326>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16284973/>
17. Van Waes C. Nuclear factor-kappa B in development, prevention, and therapy of cancer. *Clin. Cancer Res.* 2007;13(4):1076-82. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2221
View at: Publisher site: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/13/4/1076>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17317814/>
18. McKenzie HA, Fung C, Becker TM, Irvine M, Mann GJ, Kefford RF, Rizos H. Predicting functional significance of cancer-associated p16 (INK4a) mutations in CDKN2A. *Hum. Mutat.* 2010;31(6):692-701. DOI: 10.1002/humu.21245.
View at:

- Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/humu.21245>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20340136/>
19. Muşat M, Morris DG, Korbonits M., Grossman AB. Cyclins and their related proteins in pituitary tumourigenesis. *Mol. Cell Endocrinol.* 2010;27:123-34. DOI: 10.1016/j.mce.2010.03.017.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720710001644?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20347931/>
20. Child ES, Hendrychová T, McCague K, Futreal A, Otyepka M, Mann DJ. A cancer derived mutation in the PSTAIRE helix of cyclin-dependent kinase 2 alters the stability of cyclin binding. *Biochem. Biophys. Acta.* 2010;1803(7):858-64. DOI: 10.1016/j.bbamer.2010.04.004.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488910001102>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20399812/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3111755/>
21. Motamed M, Banerjee AR, Bradley PJ, Powe D. MIB-1 and p53 expression in radiotherapy-resistant T1aN0M0 glottic squamous cell carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 2001;26(3):227-30. DOI: 10.1046/j.1365-2273.2001.00461.x.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2273.2001.00461.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11437847/>
22. Gorban NA, Popuchiev VV, Baryshev VV. [Predictive criteria for the course of squamous cell carcinoma of the larynx (literature review)]. *Head and neck tumors.* 2013; 1: 33-8. [in Russian]. DOI: [10.17650/2222-1468-2013-0-1-33-38](https://doi.org/10.17650/2222-1468-2013-0-1-33-38).
View at: Publisher site: https://ogsh.abvpress.ru/jour/article/view/37?locale=ru_RU
Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/prognosticheskie-kriterii-techeniya-ploskokletochno-goraka-gortani-obzor-literatury>
23. Ioachim E, Peschos D, Goussia A, Mittari E, Charalabopoulos K, Michael M, Salmas M, Vougiouklakis Th, Assimakopoulos D, Agnantis NJ. Expression patterns of cyclins D1, E in laryngeal epithelial lesions: correlation with other cell cycle regulators (p53, pRb, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.* 2004;23(2):277-83. URL.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15354413/>
24. Mielcarek-Kuchta D, Olofsson J, Golusinski W. p53, Ki67 and cyclin D1 as prognosticators of lymph node metastases in laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2003;260(10):549-54. DOI: 10.1007/s00405-003-0651-6.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00405-003-0651-6>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14551784/>
25. Kumar RV, Shenoy AM, Daniel R, Shah KV. Cyclin D1, p53, MIB1, intratumoral microvessel density, and human papillomavirus in advanced laryngeal carcinoma: association with nodal metastasis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;131(4):509-13. DOI: 10.1016/j.otohns.2004.03.029.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0194599804003250>
Publisher site: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1016/j.otohns.2004.03.029>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15467627/>
- Volavsek M, Bracko M, Gale N. Distribution and prognostic significance of cell cycle proteins in squamous carcinoma of the larynx, hypopharynx and adjacent epithelial hyperplastic lesions. *J Laryngol Otol.* 2003;117(4):286-93. DOI: 10.1258/00222150360600896.
View at: Publisher site: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-laryngology-and-otology/article/abs/distribution-and-prognostic-significance-of-cell-cycle-proteins-in-squamous-carcinoma-of-the-larynx-hypopharynx-and-adjacent-epithelial-hyperplastic-lesions/6BD92A7BF22A047D326D24B3DB5CEDDD>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12816218/>
26. Ataman OU, Bentzen SM, Wilson GD, Daley FM, Richman PI, Saunders MI, Dische S. Molecular biomarkers and site of first recurrence after radiotherapy for head and neck cancer. *Eur J Cancer.* 2004;40(18):2734-41. DOI: 10.1016/j.ejca.2004.08.019.
View at: Publisher site: [https://www.ejca.com/article/S0959-8049\(04\)00706-3/fulltext](https://www.ejca.com/article/S0959-8049(04)00706-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15571955/>
27. Teppo H, Soini Y, Melkko J, Koivunen P, Alho O-P. Prognostic factors in laryngeal carcinoma: the role of apoptosis, p53, proliferation (Ki-67) and angiogenesis. *APMIS.* 2003;111(4):451-7. DOI: 10.1034/j.1600-0463.2003.1110401.x.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0463.2003.1110401.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12780518/>
28. Vielba R, Bilbao J, Ispizua A, Zabalza I, Alfaro J, Rezola R, Moreno E, Elorriaga J, Alonso I, Baroja A, de la Hoz C. p53 and cyclin D1 as prognostic factors in squamous cell carcinoma of the larynx. *Laryngoscope.* 2003;113(1):167-72. DOI: 10.1097/00005537-200301000-00031.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/00005537-200301000-00031>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12514403/>
29. Pastuszewski W, Dziegiel P, Krecicki T, Podhorska-Okolow M, Ciesielska U, Gorzyska E, Zabel M. Prognostic significance of metallothionein, p53 protein and Ki-67 antigen expression in laryngeal cancer. *Anticancer Res.* 2007;27(1A):335-42.
View at: Publisher site: <https://ar.iiarjournals.org/content/27/1A/335/tab-article-info>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17352251/>

30. Bezshapochny SB, Gasyuk YuA, Loburets VV. [Molecular markers in squamous cell carcinomas of the larynx]. *Journal of ear, nose and throat diseases*. 2011;4:69-74. [in Ukrainian].
31. Nylander K, Dabelsteen E, Hall PA. The p53 molecule and its prognostic role in squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Oral Pathol Med*. 2000;29(9):413-25. DOI: 10.1034/j.1600-0714.2000.290901.x
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0714.2000.290901.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11016683/>
32. Boran C, Yildiz L, Kandemir B, Karagoz F, Baris S, Aydin O. Correlation of proliferating cell nuclear antigen and bcl-2 expression with tumor front grading and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Neoplasma*. 2003;50:139-43.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12740649>
33. Hussein MR. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia. *Cancer biology and therapy*. 2005;4(2):213-7. DOI: 10.4161/cbt.4.2.1443. DOI: 10.4161/cbt.4.2.1443
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.4.2.1443>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15684608/>
34. Urpegui G, Morandeira G, Soria N, Abenia I, Valencia J, Morales M, Vallés V. [Study of bcl-2 oncogene in squamous cell carcinoma of the larynx]. *Acta Otorrinolaringol. Esp*. 2000;51(3):228-34. [Article in Spanish]
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10867397/>
35. Michaud WA, Nichols AC, Mroz EA, Faquin WC, Clark JR, Begum S, Westra WH, Wada H, Busse PM, Ellisen LW, Rocco JW. Bcl-2 blocks cisplatin-induced apoptosis and predicts poor outcome following chemoradiation treatment in advanced oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res*. 2009;15(5):1645-54. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2581.
View at: Publisher site: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/15/5/1645>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19240170/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2745309/>
36. Dvorak HF. Vascular permeability factor vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J. Clin. Oncol*. 2002;20:4368-80. DOI: 10.1200/JCO.2002.10.088.
View at: Publisher site: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2002.10.088>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12409337/>
37. Ferrara N. VEGF and the quest for tumor angiogenesis factors. *Nat. Rev. Cancer*. 2002;2:795-803. DOI: 10.1038/nrc909.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/nrc909>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12360282/>
38. Boonkitticharoen V, Kulapaditharom B, Leopairut J, Kraiphikul P, Larbcharoensub N, Cheewaruangroj W, Chintrakarn C, Pochanukul L. Vascular endothelial growth factor and proliferation marker in prediction of lymph node metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*. 2008;134(12):1305-11. DOI: 10.1001/archotol.134.12.1305.
View at: Publisher site: <https://jamanetwork.com/journals/jamaotolaryngology/fullarticle/409594>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19075127/>
39. Peltanova B, Raudenska M, Masarik M. Effect of tumor microenvironment on pathogenesis of the head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review. *Mol Cancer*. 2019;18(1):2-24. DOI: 10.1186/s12943-019-0983-5.
View at: Publisher site: <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-019-0983-5>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30927923/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6441173/>
40. Jia CC, Wang TT, Liu W, Fu B-S, Hua XF, Wang G-Y, Li T-J, Li X, Wu X-Y, Tai Y, Zhou J, Chen G-H, Zhang Q. Cancer-associated fibroblasts from hepatocellular carcinoma promote malignant cell proliferation by HGF secretion. *PLoS One*. 2013;8(5):1-9. DOI: 10.1371/journal.pone.0063243.
View at: Publisher site: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0063243>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23667593/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3647063/>
41. Luker KE, Lewin SA, Mihalko LA, Schmidt BT, Winkler JS, Coggins NL, Thomas DG, Luker GD. Scavenging of CXCL12 by CXCR7 promotes tumor growth and metastasis of CXCR4-positive breast cancer cells. *Oncogene*. 2012;31(45):4750-8. DOI: 10.1038/onc.2011.633.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/onc2011633>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22266857/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3337948/>
42. Augsten M, Sjöberg E, Frings O, Vorrink SU, Frijhoff J, Olsson E, Borg Å, Östman A. Cancer-associated fibroblasts expressing CXCL14 rely upon NOS1-derived nitric oxide signalling for their tumor-supporting properties. *Cancer Res*. 2014;74(11):2999-3010. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2740.
View at: Publisher site: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/74/11/2999>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24710408/>
43. Bello IO, Vered M, Dayan D, Dobriyan A, Yahalom R, Alanen K, Nieminen P, Kantola S, Läärä E, Salo T. Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with

- mobile tongue cancer. *Oral Oncol.* 2011;47(1):33-8. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2010.10.013.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1368837510003295?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21112238/>
44. Jung D-W, Che ZM, Kim J, Kim K, Kim K-Y, Williams D, Kim J. Tumor-stromal crosstalk in invasion of oral squamous cell carcinoma: a pivotal role of CCL7. *Int J Cancer.* 2010;127(2): 332-44. DOI: 10.1002/ijc.25060.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.25060>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19937793/>
45. Lotti F, Jarrar AM, Pai RK, Hitomi M, Lathia J, Mace A, Gantt Jr GA, Sukhdeo K, DeVecchio J, Vasanthi A, Leahy P, Hjelmeland AB, Kalady MF, Rich JN. Chemotherapy activates cancer-associated fibroblasts to maintain colorectal cancer-initiating cells by IL-17A. *J Exp Med.* 2013;210(13):2851-72. DOI: 10.1084/jem.20131195.
View at: Publisher site: <https://rupress.org/jem/article/210/13/2851/41506>
Chemotherapy-activates-cancer-associated
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24323355/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3865474/>
46. Calon A, Tauriello DV, Batlle E. TGF-beta in CAF-mediated tumor growth and metastasis. *Semin Cancer Biol.* 2014;25:15-22. DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.12.008.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X14000054?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24412104/>
47. Glentis A, Oertle P, Mariani P, Chikina A, Marjou FEL, Attieh Y, Zaccarini F, Lae M, Loew D, Dingli F, Sirven P, Schoumacher M, Gurchenkov BG, Plodinec M, Vignjevic DM. Cancer-associated fibroblasts induce metalloprotease independent cancer cell invasion of the basement membrane. *Nature Communications.* 2017;8(1):1-13. DOI: 10.1038/s41467-017-00985-8.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-00985-8>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29030636/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5640679/>
48. Hawinkels LJ, Paauwe M, Verspaget HW, Wiercinska E, van der Zon JM, van der Ploeg K, Koelink PJ, Lindeman JHN, W Mesker, Dijke P, Sier CFM. Interaction with colon cancer cells hyperactivates TGF-beta signaling in cancer-associated fibroblasts. *Oncogene.* 2014;33(1):97-107. DOI: 10.1038/onc.2012.536.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/onc2012536>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23208491/>
49. Netea MG, Mantovani A. Adaptive Characteristics of Innate Immune Responses in Macrophages. *Macrophages: Biology and Role in the Pathology of Diseases.* 2014;339-48.
View at: Scopus: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4939-1311-4_15
50. Murray PJ, Allenet JE, Biswas SK, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity.* 2014;41(1):14-20. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761314002283>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4123412/>
51. Melton DW, McManus LM, Gelfond JA, Shireman PK. Temporal Phenotypic features distinguish polarized macrophages in vitro. *Autoimmunity.* 2015;48(3):161-76. DOI: 10.3109/08916934.2015.1027816.
View at: Publisher site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08916934.2015.1027816>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25826285/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4681525/>
52. Duluc D, Corvaisier M, Blanchard S, Catala L, Descamps P, Gamelin E, Ponsoda S, Delneste Y, Hebbar M, Jeannin P. Interferon- γ reverses the immunosuppressive and protumoral properties and prevents the generation of human tumor-associated macrophages. *International Journal of Cancer.* 2009;125(2):367-73. DOI: 10.1002/ijc.24401.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.24401>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19378341/>
53. Zhang S, Kim C, Batra S, McKerrow JH, Loke P. Delineation of Diverse Macrophage Activation Programs in Response to Intracellular Parasites and Cytokines. *PLOS Neglected Tropical Diseases.* 2010;4(3):648. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000648.
View at: Publisher site: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000648>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20361029/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2846935/>
54. Weber M, Butter-Herold M, Hyckel P, Moebius P, Distel L, Ries J, Amann K, Neukam FW, Wehrhan F. Small oral squamous cell carcinomas with nodal lymphogenic metastasis show increased infiltration of M2 polarized macrophages – An immunohistochemical analysis. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* 2014;42(7):1087-94. DOI: 10.1016/j.jcms.2014.01.035.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1010518214000377?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24556525/>
PubMed Central:
55. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero RM, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *The Journal of Pathology.* 2013;229(2):176-85. DOI: 10.1002/path.4133.
View at:
Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.4133>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23096265/>

56. Lan C, Huang X, Lin S, Huang H, Cai Q, Wan T, Lu J, Liu J. Expression of M2-Polarized Macrophages is Associated with Poor Prognosis for Advanced Epithelial Ovarian Cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*. 2013;12(3):259-67. DOI: 10.7785/tcrt.2012.500312. View at: Publisher site: <https://journals.sagepub.com/doi/10.7785/tcrt.2012.500312> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23289476/>
57. Hu Y, He MY, Zhu LF et al. Tumor-associated macrophages correlate with the clinicopathological features and poor outcomes via inducing epithelial to mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016; 35(12):1-19. DOI: 10.1186/s13046-015-0281-z. View at: Publisher site: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-015-0281-z> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26769084/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4714460/>
58. Li W, Zhang X, Wang J, Li M, Cao C, Tan J, Ma D, Gao Q. TGF β 1 in fibroblasts-derived exosomes promotes epithelial mesenchymal transition of ovarian cancer cells. *Oncotarget*. 2017;8(56):96035-47. DOI: 10.18632/oncotarget.21635. View at: Publisher site: <https://www.oncotarget.com/article/21635/text/> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29221185/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5707079/>
59. Seminerio I, Kindt N, Descamps G, Bellier J, Lechien JR, Mat Q, Pottier C, Journé F, Saussez S. High infiltration of CD68+ macrophages is associated with poor prognoses of head and neck squamous cell carcinoma patients and is influenced by human papillomavirus. *Oncotarget*. 2018;9(13):11046-59. DOI: 10.18632/oncotarget.24306. View at: Publisher site: <https://www.oncotarget.com/article/24306/text/> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29541395/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5834277/>
60. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*. 2004; 303(5663):1532-5. DOI: 10.1126/science.1092385 View at: Publisher site: <https://science.sciencemag.org/content/303/5663/1532> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15001782/>
61. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, Weinrauch Y, Brinkmann V, Zychlinsky A. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *The Journal of Cell Biology*. 2007;176(2):231-41. DOI: 10.1083/jcb.200606027. View at: Publisher site: <https://rupress.org/jcb/article/176/2/231/44718/Novel-cell-death-program-leads-to-neutrophil> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17210947/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2063942/>
62. Yipp BG, Petri B, Salina D. et al. Dynamic NETosis is Carried Out by Live Neutrophils in Human and Mouse Bacterial Abscesses and During Severe Gram-Positive Infection. *Nature medicine*. 2012;18(9):1386-93. DOI: 10.1038/nm.2847. View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/nm.2847> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22922410/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4529131/>
63. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers Jr DD, Wroblewski SK, Wakefield TW, Hartwig JH, Wagner DD. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(36):15880-5. DOI: 10.1073/pnas.1005743107. View at: Publisher site: <https://www.pnas.org/content/107/36/15880> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20798043/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2936604/>
64. Demers M, Krause DS, Schatzberg D, Martinod K, Voorhees JR, Fuchs TA, Scadden DT, Wagner DD. Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(32):13076-81. DOI: 10.1073/pnas.1200419109. View at: Publisher site: <https://www.pnas.org/content/109/32/13076> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22826226/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3420209/>
65. Paneesha S, McManus A, Arya R, Scriven N, Farren T, Nokes T, Bacon S, Nieland A, Cooper D, Smith H, O'Shaughnessy D, Rose P. Frequency, demographics and risk (according to tumour type or site) of cancer-associated thrombosis among patients seen at outpatient DVT clinics. *Thrombosis and Haemostasis*. 2010;103(2):338-43. DOI: 10.1160/TH09-06-0397. View at: Publisher site: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1160/TH09-06-0397> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20024496/#:~:text=In%20the%20current%20study%2C%20the,13.6%25%20in%20this%20outpatient%20population.>
66. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM. Polarization of Tumor-Associated Neutrophil Phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*. 2009;16(3):183-94. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.017. View at: Publisher site: [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(09\)00215-3](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(09)00215-3) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19732719/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2754404/>
67. Jablonska J, Leschner S, Westphal K, Lienenklaus

- S, Weiss S. Neutrophils responsive to endogenous IFN- β regulate tumor angiogenesis and growth in a mouse tumor model. *The Journal of Clinical Investigation*. 2010;120(4):1151-64. DOI: 10.1172/JCI37223.
View at: Publisher site: <https://www.jci.org/articles/view/37223>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20237412/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2846036/>
68. Andzinski L, Kasnitz N, Stahnke S, Wu C-F, Gereke M, von Köckritz-Blickwede M, Schilling B, Brandau S, Weiss S, Jablonska J. Type IIFNs induce anti-tumor polarization of tumor associated neutrophils in mice and human. *International Journal of Cancer*. 2016;138(8):1982-93. DOI: 10.1002/ijc.29945.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.29945>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26619320/>
69. Lechner MG, Liebertz DJ, Epstein AL. Characterization of cytokine-induced myeloid-derived suppressor cells from normal human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of immunology*. 2010; 185(4):2273-84. DOI: 10.4049/jimmunol.1000901.
View at: Publisher site: <https://www.jimmunol.org/content/185/4/2273>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20644162/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2923483/>
70. Raber PL, Thevenot P, Sierra R, Wyczechowska D, Halle D, Ramirez ME, Ochoa AC, Fletcher M, Velasco C, Wilk A, Reiss K, Rodriguez PC. Subpopulations of myeloid-derived suppressor cells impair T cell responses through independent nitric oxide-related pathways. *Int J Cancer*. 2014:1097-2015. DOI: 10.1002/ijc.28622.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.28622>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24259296/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3980009/>
71. Corzo CA, Cotter MJ, Cheng P, Cheng F, Kusmartsev S, Sotomayor E, Padhya T, McCaffrey TV, McCaffrey JC, Gabrilovich DI. Mechanism regulating reactive oxygen species in tumor induced myeloid-derived suppressor cells: MDSC and ROS in cancer. *Journal of immunology*. 2009;182(9):5693-701. DOI: 10.4049/jimmunol.0900092.
View at: Publisher site: <https://www.jimmunol.org/content/182/9/5693>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19380816/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2833019/>
72. Zhang H, Li ZL, Ye ShB et al. Myeloid-derived suppressor cells inhibit T cell proliferation in human extranodal NK/T cell lymphoma: a novel prognostic indicator. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2015;64(12):1587-99. DOI: 10.1007/s00262-015-1765-6.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00262-015-1765-6>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26497849/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4643115/>
73. Noman MZ, Desantis G, Janji B, Hasmim M, Karray S, Dessen P, Bronte V, Chouaib S. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *The Journal of Experimental Medicine*. 2014;211(5):781-90. DOI: 10.1084/jem.20131916.
View at: Publisher site: <https://rupress.org/jem/article/211/5/781/41703/PD-L1-is-a-novel-direct-target-of-HIF-1-and-its>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24778419/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4010891/>
74. Huang B, Pan PY, Li Q, Sato AI, Levy DE, Bromberg J, Divino CM, Chen S-H. Gr-1+CD115+ Immature Myeloid Suppressor Cells Mediate the Development of Tumor-Induced T Regulatory Cells and T-Cell Anergy in Tumor-Bearing Host. *Cancer Research*. 2006;66(2):1123-31. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1299.
View at: Publisher site: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/66/2/1123>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16424049/>
75. Hoechst B, Voiglaender T, Ormandy L, Gamrekelashvili J, Zhao F, Wedemeyer H, Lehner F, Manns MP, Greten TF, Korangy F. Myeloid derived suppressor cells inhibit natural killer cells in patients with hepatocellular carcinoma via the NKp30 receptor. *Hepatology*. 2009;1527-50. DOI: 10.1002/hep.23054.
View at: Publisher site: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.23054>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19551844/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6357774/>
76. Du R, Lu KL, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passequé E, Song H, Vandenberg S, Johnson RS, Werb Z, Bergers G. HIF1 α Induces the Recruitment of Bone Marrow-Derived Vascular Modulatory Cells to Regulate Tumor Angiogenesis and Invasion. *Cancer cell*. 2008;13(3):206-20. DOI: 10.1016/j.ccr.2008.01.034.
View at: Publisher site: [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(08\)00041-X](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(08)00041-X)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18328425/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2643426/>
77. Hugle T. Beyond allergy: the role of mast cells in fibrosis. *Swiss Med Wkly*. 2014:1424-97. DOI: 10.4414/smw.2014.13999.
View at: Publisher site: <https://smw.ch/article/doi/smw.2014.13999>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25184789/>
78. Baram D, Vaday GG, Salamon P, Drucker I, Hershkovitz R, Mekori YA. Human Mast Cells Release Metalloproteinase-9 on Contact with Activated T

- Cells: Juxtacrine Regulation by TNF- α . The Journal of Immunology. 2001;167(7):4008-16. DOI: 10.4049/jimmunol.167.7.4008.
View at: Publisher site: <https://www.jimmunol.org/content/167/7/4008>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11564820/>
79. Stoyanov E, Uddin M, Mankuta D, Dubinett SM, Levi-Schaffer F. Mast cells and histamine enhance the proliferation of non-small cell lung cancer cells. Lung Cancer. 2012;75(1):38-44. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.05.029
View at: Publisher site: [https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002\(11\)00329-1/fulltext](https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002(11)00329-1/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21733595/>
80. Saleem SJ, Martin RK, Morales JM, Sturgill JL, Gibb DR, Graham L, Bear HD, Manjili MH, Ryan JJ, Conrad DH. Cutting edge: mast cells critically augment myeloid-derived suppressor cell activity. J Immunol. 2012;1550-606. DOI: 10.4049/jimmunol.1200647.
View at: Publisher site: <https://www.jimmunol.org/content/189/2/511>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22706087/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3392490/>
81. Yang Z, Zhang B, Li D, Lv M, Huang C, Shen G-X, Huang B. Mast Cells Mobilize Myeloid-Derived Suppressor Cells and Treg Cells in Tumor Microenvironment via IL-17 Pathway in Murine Hepatocarcinoma Model. PLOS ONE. 2010;5(1):e8922. DOI: 10.1371/journal.pone.0008922.
View at: Publisher site: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0008922>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20111717/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2811741/>
82. Lähti S, Leskinen M, Shiota N, Wang Y, Kovanen PT, Lindstedt KA. Mast cell-mediated apoptosis of endothelial cells in vitro: A paracrine mechanism involving TNF- α -mediated down-regulation of bcl-2 expression. Journal of Cellular Physiology. 2003;195(1): 130-8. DOI: 10.1002/jcp.10235.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcp.10235>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12599216/>
83. Fauriat C, Long EO, Ljunggren HG, Bryceson YT. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition. Blood. 2010;115(11): 2167-76. DOI: 10.1182/blood-2009-08-238469.
View at: Publisher site: <https://ashpublications.org/blood/article/115/11/2167/27060/Regulation-of-human-NK-cell-cytokine-and-chemokine>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19965656/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844017/>
84. Orr MT, Lanier LL. Natural Killer Cell Education and Tolerance. Cell. 2010; 142(6):847-56. DOI: 10.1016/j.cell.2010.08.031.
View at: Publisher site: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(10\)01000-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867410010007%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(10)01000-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867410010007%3Fshowall%3Dtrue)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20850008/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2945212/>
85. Chan CJ, Smyth MJ, Martinet L. Molecular mechanisms of natural killer cell activation in response to cellular stress. Cell Death and Differentiation. 2014;21:5-14. DOI: 10.1038/cdd.2013.26.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/cdd201326>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23579243/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3857624/>
86. Wang W, Erbe AK, Hank JA, Morris ZS, Sondel PM. NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy. Frontiers in Immunology. 2015;6:368. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00368.
View at: Publisher site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00368/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26284063/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4515552/>

Article history
Received: 30.04.2021
Revision requested: 27.05.2021
Revision received: 18.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ РАКА ГОРТАНОГЛОТКИ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ. Обзор

Гринь Н.В., Бурлака Ю.Б.

ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.С. Коломийченко», Киев, Украина

burlakaiuliia @ yahoo.com

Актуальность. Злокачественные новообразования гортаноглотки являются одной из актуальных и социально значимых проблем в современной онкологии и одной из наиболее частых локализаций среди органов головы и шеи. Важным фактором, влияющим на высокую частоту случаев в популяции, является бессимптомное течение болезни, в связи с чем больные обращаются в специализированные учреждения с уже распространенным опухолевым процессом.

Цель: обобщить и систематизировать данные по этиологии и патогенезу рака гортаноглотки.

Материалы и методы. Анализ научных публикаций в международных электронных наукометрических базах данных Scopus, PubMed по ключевым словам. Глубина поиска – 20 лет (2001-2020 гг.).

Результаты. В последние годы взгляд на механизмы развития канцерогенеза кардинально изменился, опухоль больше не рассматривается как масса злокачественных клеток, а скорее, как самодостаточная биологическая структура со сложным микроокружением, в которое вовлечены другие субпопуляции клеток, поврежденные раковыми. Стромальный компонент микроокружения опухоли состоит из различных типов клеток, таких как ассоциированные с раком фибробласты, нейтрофилы, макрофаги, регуляторные Т-клетки, миелоидные клетки-супрессоры, НК-клетки и т.д. Эти субпопуляции клеток взаимодействуют друг с другом, а также с раковыми клетками. Кроме того, одним из перспективных направлений в создании панели маркеров риска развития рака гортаноглотки могут выступать амплификация, делеция, потеря гетерозиготности, а также полиморфизм некоторых генов, которые непосредственно участвуют в клеточном цикле или выступают в роли регуляторов посттранскрипционных модификаторов их продуктов на ранних этапах канцерогенеза.

Выводы. Микроокружение опухоли состоит из множества различных популяций клеток. Эти части окружающей стромы могут функционировать как положительные, так и как отрицательные регуляторы всех признаков развития рака, включая уклонение от апоптоза, индукцию ангиогенеза, дерегуляцию энергетического метаболизма, устойчивость к выявлению и разрушению иммунной системой, а также активацию инвазии и метастазирования. Исследование различий в составе микроокружения опухоли и их влияние на развитие и прогрессирование рака гортаноглотки может помочь лучше понять механизмы, лежащие в основе различных ответов на терапию, а следовательно, поможет определить возможные цели для клинического вмешательства.

Ключевые слова: рак гортаноглотки, этиология и патогенез рака гортаноглотки, генетические и иммунологические факторы развития рака гортаноглотки.

ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF HYPOPHARYNX CANCER: GENETIC AND IMMUNOLOGICAL FACTORS OF DEVELOPMENT. Review

Grin N.V., Burlaka Yu.B.

SI «Kolomiychenko Otolaryngology Institute», Kyiv, Ukraine

burlakaiuliia @ yahoo.com

Relevance. In the modern oncology hypopharynx malignant tumors are one of the urgent and significant problems. Hypopharynx is one of the most frequent localizations in the head and neck. An important factor causing the high occurrence in the population is the asymptomatic course of the disease, resulting in patients presenting for treatment with an already widespread tumour process.

Objective: to summarize and systematize data on the etiology and pathogenesis of hypopharynx cancer.

Materials and methods. Analysis of scientific publications in the international electronic scientometric databases Scopus, PubMed by keywords. Search depth – 20 years (2001-2020).

Results. In recent years, the view on the mechanisms of the development of carcinogenesis has changed dramatically, the tumour is no longer considered as a mass of malignant cells, but rather as a self-sufficient biological structure with a complex microenvironment in which other subpopulations of cells damaged by cancer are involved. The stromal component of the tumour microenvironment consists of various types of cells such as cancer-associated fibroblasts, neutrophils, macrophages, regulatory T-cells, myeloid suppressor cells, NK-cells etc. These subpopulations of cells interact with each other as well as with cancer cells. In addition to amplification, deletion, loss of heterozygosity, as well as polymorphism of some genes that are directly involved in the cell cycle or act as regulators of posttranscriptional modifiers of their products at the early stages of carcinogenesis may be one of the promising directions in creating a panel of markers for the risk of developing hypopharynx cancer.

Conclusions. The microenvironment of the tumor consists of many different cell populations. These parts of the surrounding stroma can function as both positive and negative regulators of all signs of cancer, including evasion of apoptosis, induction of angiogenesis, deregulation of energy metabolism, resistance to detection and destruction by the immune system, and activation of invasion and metastasis. Exploring differences in the composition of the tumour microenvironment and their influence on the development and progression of hypopharynx cancer can help better understand mechanisms underlying different responses to therapy, and help to identify possible targets for clinical intervention.

Key words: hypopharynx cancer, etiology and pathogenesis of hypopharynx cancer, genetic and immunological factors in the development of hypopharynx cancer.

СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОМЕНЕВИХ ТА АКУСТИЧНИХ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ПНЕВМОНІЇ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВИКЛИКАНОЇ ВІРУСОМ SARS-COV-2, У ДІТЕЙ. Огляд

¹Марушко Ю.В. <https://orcid.org/0000-0001-8066-9369>

¹Хомич О.В. <https://orcid.org/0000-0001-9272-7159>

¹Гищак Т.В. <https://orcid.org/0000-0002-7920-7914>

¹Таринська О.Л. <https://orcid.org/0000-0003-3759-1732>

²Щегель Г.О. <https://orcid.org/0000-0003-0028-9791>

¹Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, Україна

²Національний авіаційний університет, Київ, Україна

khomychov@gmail.com

Актуальність. Пневмонія наразі залишається актуальною проблемою практичної медицини. Діагностика пневмонії достатньо складна і потребує комплексного дослідження з урахуванням як клінічних симптомів, так і результатів параклінічних методів дослідження.

Ціль: узагальнити дані літератури та власний досвід щодо сучасних променевих та акустичних методів діагностики пневмонії.

Методи. Аналіз наукових публікацій в міжнародних електронних наукометричних базах даних Scopus, PubMed за ключовими словами. Глибина пошуку – 15 років (2007-2021 рр.).

Результати. Проаналізована діагностика пневмонії на різних етапах лікування. Описані показання та протипоказання до використання, переваги і недоліки рентгенологічного методу, методу комп'ютерної томографії та ультразвукової діагностики. Наведена характеристика нового методу апаратної діагностики, який без зовнішнього опромінення дає можливість проводити первинну акустичну дистанційну діагностику пневмонії.

Висновок. На сьогодні існує широкий спектр інструментальних методів дослідження дихальної системи, що дозволяють точно встановлювати діагноз, але мають певні обмеження у використанні в клінічній практиці, зокрема в педіатрії. Перспективним є розробка нових акустичних методів, що мають високу діагностичну цінність, відсутність додаткового опромінення та протипоказань.

Ключові слова: пневмонія, пульмофониографія, діагностика, діти, COVID-19.

Актуальність. Пневмонія наразі залишається актуальною проблемою практичної медицини, оскільки може супроводжуватися тяжкими ускладненнями і мати небезпечні для життя наслідки [1, 2]. Це захворювання рік за роком змінюється, певним чином, за рахунок етіологічної структури та пов'язаних з нею особливостей перебігу. В етіології пневмонії все більшого значення набувають віруси, що спричиняють «нетипову» картину захворювання. Наразі в світі триває пандемія COVID-19, при якій пневмонії є загрозливим проявом. Вірус SARS-CoV-2 постійно мутує і відповідно викликає все більш важкі за перебігом пневмонії. В цьому плані своєчасна діагностика пневмоній набуває великого практичного значення для призначення адекватної терапії.

Діагностика пневмонії достатньо складна і потребує комплексного дослідження з урахуванням як клінічних симптомів, так і результатів параклінічних методів дослідження.

Ціль: узагальнити дані літератури та власний досвід щодо сучасних променевих та акустичних методів діагностики пневмонії.

МЕТОДИ

Аналіз наукових публікацій в міжнародних електронних наукометричних базах даних Scopus, PubMed за ключовими словами. Глибина пошуку – 15 років (2007-2021 рр.).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Наразі в різних країнах світу проводиться удосконалення стандартів діагностики пневмонії. Активну участь у створенні таких діагностичних критеріїв приймають Американське торакальне товариство (American Thoracic Society – ATS), Британське торакальне товариство (British Thoracic Society – BTS), Канадське товариство інфекційних хвороб (Canadian Infectious Disease Society – CIDS) та Європейське респіраторне товариство (European Respiratory Society – ERS). Останній перегляд настанов вище вказаних товариств відбувся у 2020-2021 роках.

В Україні діагноз пневмонії у дітей встановлюють згідно наказу № 128 МОЗ України, який пройшов перегляд у 2014 році та на сьогоднішній день є чинним. У 2017 році набув чинності Наказ МОЗ України № 1422, що затвердив клінічну настанову № 00122 «Пнеumo-

нія». Клінічна настанова охоплює сучасніші дані щодо діагностики і лікування пневмоній, що відповідають загально прийнятим Європейським стандартам [3, 4]. Згідно цієї настанови, золотим стандартом діагностики негоспітальної пневмонії є рентгенографія органів грудної клітки. Рентгенологічне обстеження – один із найдоступніших і розповсюджених методів для візуалізації патологічних змін у легенях [4].

Рентгенологічний метод надає аналіз структури і функціональних можливостей органів, ґрунтується на кількісному і якісному аналізі пучка рентгенівських променів, що проникають крізь організм людини, та отриманих статичних, аналогових, діагностичних даних на рентгенограмах [5].

Рентгенівські промені при проходженні через тканину різної щільності послаблюються і формують променеві зображення на рентгенівській плівці або флуоресцентному екрані. Променеві зображення поділяються на аналогові (рентгенограми, сцинтиграми та термограми), які отримані за допомогою методів класичної рентгенодіагностики, та цифрові, що отримані за допомогою комп'ютера (при комп'ютерній томографії, магнітно-резонансній томографії, ультразвуковому скануванні, цифровій рентгенографії) [6].

Згідно загальних практичних рекомендацій від American College of Radiology (ACR) [7] розроблені спеціальні показання для проведення рентгенографії грудної клітки, а саме: діагностика патологічних ознак, що пов'язані з дихальною, серцево-судинною, травною системами, опорно-руховим апаратом та моніторинг динаміки захворювань дихальної системи, передопераційна оцінка, рентгенографія при туберкульозі, інше.

Як свідчать дані настанови № 00122 МОЗ України, рентгенографія призначається тільки тоді, коли є характерна клінічна картина та дослідження є доцільним. Не можна виключити пневмонію, коли на рентгенограмі відсутні інфільтративні зміни, але клінічна картина захворювання та данні лабораторних досліджень типові для пневмонії [4].

Незважаючи на існування чітких клінічних однак пневмонії, часто на догоспітальному етапі це захворювання діагностується несвоєчасно, про що свідчать дані наукових досліджень. Так, проведений ретроспективний аналіз історій хвороби 221 дитини до 5 років, що лікувалися в стаціонарі з приводу пневмонії. Було виявлено, що 31,1% дітей були госпіталізовані пізніше сьомого дня хвороби і правильний діагноз пневмонії їм було встановлено вже на стаціонарному етапі лікування [8].

З іншого боку, існують повідомлення і про гіпердіагностику пневмоній на догоспітальному етапі. Була представлена робота, яка характеризувала причини гіпердіагностики пневмонії у дітей. Ретроспективно було досліджено 184 історії хвороби дітей з пневмонією для оцінки правильності призначення рентгенологічного методу обстеження. Дослідження показало,

що у кожного 5-го пацієнта мала місце гіпердіагностика, а у 32,3 % досліджуваних на рентгенологічних знімках були ознаки обструктивного бронхіту. Було виявлено, що гіпердіагностика пневмонії найчастіше була проведена у дітей перших трьох років життя через неправильну оцінку клінічних і рентгенологічних проявів обструктивного бронхіту [9].

За іншими даними, дітям з клінічними ознаками пневмонії проводять рентгенологічне дослідження грудної клітки, коли клінічні результати є сумнівними, є можливість виникнення ускладнень та в лікуванні немає позитивної динаміки. Автори вказують, при неускладненій позаликарняній пневмонії з типовою клінічною картиною та підтвердженій лабораторними даними, застосування рентгенологічного методу є недоцільним. Однак, якщо пацієнт має гіпоксемію чи ускладнений перебіг пневмонії, рентгенографію грудної клітки потрібно проводити в двох проекціях. Якщо таких проявів немає, за необхідності можливо провести рентгенографію в одній проекції [10].

Перевагою рентгенологічних методів в діагностиці пневмоній є висока точність і швидкість отримання результату. За даними літератури, чутливість рентгенологічного підтвердження пневмококової пневмонії складає 93 % (ДІ 80-98 %), а негативна прогностична цінність нормальної рентгенограми грудної клітки – 92 % (ДІ 77-98 %). Тому був зроблений висновок, що рентгенологічно підтверджена пневмонія є предиктором бактеріальної пневмонії [11].

Разом з тим, чутливість рентгенологічного методу в діагностиці вірусних пневмоній у дорослих коливається від 25 % [12] до 69 % [13]. Менша ефективність рентгенологічного методу при діагностиці ураження легень SARS-CoV-2, обумовлена нижчою імовірністю побачити специфічні ознаки, що характерні саме для ураження легень при COVID-19, а саме: «матове скло», ретикулярні зміни, консолідація [14].

Було досліджено діагностичну значимість рентгенологічного методу при COVID-19. В дослідженні прийняли участь 44 дитини з позитивним результатом на ПЛР на COVID-19, віком від 12 місяців до 16 років. Було виявлено, що при рентгенографії легень у більшості дітей з симптомним перебігом COVID-19 спостерігаються відхилення від норми, такі як підвищена щільність навколо стінок легеневого бронха (86,3 %), залучення периферичного простору (63,3 %), дифузне перибронхіальне манжетування (59 %), плевральний випіт (9,1 %), розширення середостіння (4,5 %). Рентгенографія в динаміці перед випискою у 84,1 % випадків показала повне видужання, однак погіршення симптомів було у 15,9 % пацієнтів – спостерігалось загострення рентгенологічних ознак та поява нових ущільнень [15].

Встановлено, що у кожного п'ятого пацієнта, що знаходився на стаціонарному лікуванні з діагнозом «негоспітальна пневмонія», мала місце гіпердіагнос-

тика пневмонії [8]. Це відбувалося через неправильність та двоякість трактовки рентгенологічних знімків, а саме: варіабельність результатів, що отримані від різних фахівців.

Згідно рекомендацій American College of Radiology (ACR) [7], роль лікаря-рентгенолога полягає в правильності трактовки рентгенологічних знімків, адже спеціалісти можуть інтерпретувати одну і ту саму рентгенограму по-різному. Це явище в деяких наукових дослідженнях отримало назву: «варіабельність результатів дослідження» [16, 17].

Наразі немає єдиних настанов щодо трактовки рентгенологічних змін, що лікар спостерігає на рентгенограмі. В науковій літературі це питання активно дискутується [18].

Науковці, лікарі ставлять завдання правильної інтерпретації патологічних рентгенологічних знімків грудної клітки на конкретних клінічних випадках та пропонують розробити та дотримуватися систематичної техніки читання рентгенограм, щоб зменшити ризик виникнення помилок. Уміння рентгенолога, особливо у сумнівних ситуаціях при інтерпретації рентгенологічних знімків, залишаються вкрай важливими [18].

Наразі в умовах пандемії COVID-19 рентгенографія грудної клітки у дітей не втрачає актуальності [15]. При інфекції SARS-CoV-2 рентгенографічний метод застосовують у дітей з помірними чи важкими симптомами, у дітей з обтяженим анамнезом, які перебувають в групі ризику та потребують госпіталізації та спостереження, а також для первинного встановлення рівня візуалізації легень [14, 15].

Рівень чутливості комп'ютерної томографії щодо діагностики пневмоній вищий порівняно із рентгенографією і, за даними різних авторів, він коливається від 86 % [19] до 97-98 % [20]. На нашу думку, розбіжність даних щодо чутливості методу може бути через різну статистичну вибірку, а саме: різну кількість пацієнтів, стадію захворювання та правильність обраного протоколу, згідно якого буде проводитися трактовка результатів.

Є дані, що чутливість комп'ютерної томографії для встановлення діагнозу пневмонії при COVID-19 у дорослих становила 98 %, порівняно з чутливістю ПЛР 71 % ($p < 0,01$) [21]. Специфічні зміни, характерні для SARS-CoV-2, більш чітко виявляються за допомогою КТ, порівняно з рентгенографією грудної клітки, як у дорослих [20, 21, 22], так і у дітей [23, 24].

Показаннями для проведення КТ грудної клітини у дітей є невідповідність клінічних та рентгенологічних даних, а також можливий розвиток ускладнень, обсяг, характер та поширеність яких можна встановити даним методом [25, 26].

Незважаючи на високу діагностичну значимість дослідження КТ, існує суттєве обмеження для ши-

рокого застосування цього методу. За загальними стандартами, абсолютними протипоказаннями до проведення КТ є вагітність і вага пацієнта більше 150 кг [27]. Слід враховувати, що рівень опромінення при проведенні КТ в 100-300 разів більший, ніж при застосуванні рентгенологічного методу з низькою дозою радіації. За даними University of Washington Medical Center, доза опромінення в процесі КТ-сканування така ж сама, яку людина може отримати в природному середовищі протягом 1-3 років [28]. За даними СПб ГБУЗ «Центр з профілактики та боротьби зі СНІД та інфекційними захворюваннями», при проведенні КТ грудної клітини (при типовій ефективній дозі 8 мЗв) опромінення еквівалентно 400 рентгенографіям грудної клітини або 3,6 рокам життя людини при природньому фоні 3 мЗв за рік. Так, наприклад, під час звичайної рентгенографії органів грудної клітини пацієнт отримує приблизно 0,02 мЗв, так як при КТ ця доза складає 4-7 мЗв [29].

Згідно з міжнародними протоколами, дослідження з відносно високим променевим навантаженням, такі як комп'ютерна томографія, рентгеноскопія, сцинтиграфія або позитрон-емісійна томографія (ПЕТ), повинні проводитися за чіткими медичними показаннями. Це обмежує їх застосування на догоспітальному етапі [30].

Через велике радіаційне навантаження різко обмежене проведення КТ дітям в динаміці лікування пневмонії, в той час коли контрольні обстеження часто бувають необхідними [30].

При COVID-19 застосування КТ грудної клітини на первинних етапах діагностики не рекомендоване дітям до 12 років [14, 24, 25]. В цій віковій категорії КТ грудної клітини рекомендовано проводити в стаціонарі при сумнівних рентгенологічних даних з метою диференціальної діагностики [14].

У зв'язку з вище названими обмеженнями на тлі пандемії COVID-19 почали більш широко використовуватися інші методи діагностики уражень легень. Більш безпечним методом діагностики запальних змін на початкових етапах захворювання та для проведення моніторингу змін в легенях в динаміці є метод УЗД грудної клітини [30, 31].

УЗД показало високу ефективність в сортуванні хворих з пневмонією, особливо в тих ситуаціях, коли КТ неможливо провести [32]. УЗД легень гарно зарекомендував себе як приліжковий метод діагностики [33]. Авторами було проведено сліпе рандомізоване дослідження, де були порівняні результати УЗД легень та КТ грудної клітини у пацієнтів з COVID-19. За допомогою УЗД методу були виявлені такі зміни, як інтерстиціальний набряк легень у 90 % та консолидація легеневої тканини – у 20 % пацієнтів. Чутливість методу ультразвукової оцінки стану легень у пацієнтів з легким, середнім та важким перебігом пневмонії склала 68,8 %, 77,8 % та 100,0 %, відповідно,

специфічність – 85,7 %, 76,2 %, 92,9 %, діагностична точність – 76,7 %, 76,7 %, 93,3 %, відповідно.

Мета-аналіз показав, що чутливість УЗД легенів щодо виявлення пневмонії становить 96 % та специфічність 93 %, а позитивні та негативні коефіцієнти ймовірності 15,3 та 0,06 (площа під кривою 0,98). Тому було зроблено висновок, що УЗД легенів є альтернативним методом візуалізації для діагностики пневмонії у дітей [34].

Виявлений високий корелятивний зв'язок результатів дослідження УЗД легенів з результатами КТ грудної клітини у пацієнтів із пневмонією COVID-19 [35].

У відділеннях реанімації та інтенсивної терапії потрібний постійний моніторинг стану легенів [36], який допомагає у виборі тактики лікування та служить однією з рекомендацій для перекладання пацієнта в прон-позицію [37].

Проведено дослідження щодо порівняння діагностичної значимості УЗД легенів з рентгенографією органів грудної клітини при пневмонії. Показано, що діагностична значимість УЗД легенів в порівнянні з рентгенографією за коефіцієнтом Каппа становить 0,64-0,89 [38].

На сьогодні єдиним системним підходом для діагностики пневмонії за допомогою УЗД не розроблено [37].

Було запропоновано [39] методику щодо топічної діагностики пневмонії. Автори розділили кожен геміторакс на передню, бічну та задню зони, що, в свою чергу, поділяються на верхні та нижні половини, потім кожна зона сканується за анатомічними лініями. Коли виявляється область патології, то проводиться оцінка саме цієї ділянки.

Перевагами УЗД, порівняно з КТ, є відсутність радіаційного опромінення, можлива повторюваність процедури біля ліжка хворого, проведення ранньої діагностики і моніторингу пневмонії COVID-19 в динаміці лікування [40].

УЗД легенів має деякі переваги порівняно з рентгенологічним методом. Метод УЗД є більш чутливим для виявлення невеликих консолидацій [41], в тому числі піддіафрагмальних консолидацій, яких не видно на рентгенограмі грудної клітини в прямій проекції без додаткового бокового знімку [42]. Проте за допомогою УЗД легенів неможливо побачити консолидації, що не досягають плевральної поверхні [41, 42], та ущільнення, що розташовані у важкодоступних ділянках легень (надключична, пахвова ділянка) [43].

Дослідження КТ грудної клітки у пацієнтів з COVID-19 показали, що більшість ущільнень зазвичай локалізовані в периферичних відділах легенів, що полегшує виявлення їх за допомогою УЗД [44].

Варто звернути увагу, що результати, представлені в різних дослідженнях щодо визначення ефективності застосування ультразвукового сканування легенів,

як і інших методів, суттєво залежать від клінічної інтерпретації їх лікарем. Так, була доведена точність постановки діагнозу пневмонії за допомогою методу УЗД [45]. Якщо розмір консолидацій був >1 см, специфічність УЗД була вищою, ніж рентгенологічного методу, і складала 98,4 % (AUC 0,89). Автори рекомендують: якщо розмір консолидацій більше 1 см, то можна проводити тільки УЗД без рентгенологічного методу.

Була проведена робота щодо виявлення діагностичної точності проведення УЗД легенів порівняно з КТ грудної клітини при COVID-19. Ретроспективним методом було досліджено 45 пацієнтів віком 37-90 років. Всім пацієнтам було виконано УЗД-обстеження з оцінкою 14 зон, що відповідали топографічним сегментам легенів на КТ. Права передня верхня зона на УЗД відповідала S3 сегменту легені на КТ, права передня нижня – S5, права передня середня верхня – S4, права бокова середня нижня – S2, права бокова задня верхня – S6, права задня середня – S6, права задня нижня S9-10. Ліва передня верхня зона на УЗД відповідала S3 сегменту легені на КТ, ліва передня нижня – S5, ліва передня середня верхня – S2-3, права бокова середня нижня – S8, права бокова задня верхня – S3, права задня середня – S6, права задня нижня S9-10. Ехограми легенів порівнювалися з даними КТ, за такими критеріями, як поширеність процесу і характер структурних змін. Було виявлено, що ураження 10-11 зон по УЗД відповідало ураженням 1-2-го ступеня згідно КТ, ураження 13-14 зон – ураженням 3-4-го ступеня згідно КТ. Авторами був зроблений висновок, що чутливість УЗД у виявленні патологічних змін у легенях різного характеру складає ≥ 92 %. Найбільша чутливість 97,9 % (95 % ДІ: 92,8-99,8 %) визначена для дрібних консолидацій на тлі інтерстиціальних змін. Специфічність методу УЗД залежала від характеру змін в легенях і становила від 46,7 % до 70,0 %, а діагностична точність була ≥ 81 %. Максимальні показники специфічності були 90,6 % (95 % ДІ: 85,6-94,2 %) для помірних інтерстиціальних змін (ступінь 1a), які відповідають «матовому склу» (перший тип), за даними КТ. Проте обмеженнями для застосування методу УЗД є відсутність можливості чітко визначати поширеність процесу і виявляти центрально розташовані зони зміни легеневої тканини [46].

В літературі є дані про те, що чутливість, специфічність та точність УЗД-діагностики, порівняно з КТ грудної клітини, зростають із вираженістю проявів пневмонії, викликаной SARS-CoV-2 [47]. Ряд авторів вказує на можливість УЗД виявляти саме динамічні зміни, що пов'язані з пневмонією COVID-19 [48].

За іншими даними, УЗД при COVID-19 дещо збільшує ризик зараження через близькість лікаря до пацієнта [1].

Важлива роль УЗД полягає в оцінці розміру та

об'єму випоту у плевральній порожнині. Однак, за даними авторів, плеврит є рідкісною знахідкою при пневмонії COVID-19 у дітей [49].

Враховуючи вище наведене, головними перевагами УЗД є доступність та швидкість дослідження, висока інформативність, можливість неодноразового повторення процедур для уточнення діагнозу, моніторингу перебігу захворювання, а також можливість проведення скринінгових обстежень для профілактики і раннього виявлення патології [49].

Однак існують візуальні обмеження для застосування методу УЗД, а саме: відсутність можливості чітко визначати поширеність процесу і виявити центрально розташовані зони ураження легеневої тканини [46].

В останні роки ширшого застосування набувають методи діагностики, що базуються на використанні в якості носія інформації механічних, зокрема акустичних, коливань без зовнішнього опромінення [50]. Джерелом акустичних коливань виступає пацієнт.

У теперішній час респіраторна акустика є перспективним науковим напрямом [26]. Основними завданнями цього напрямку є розробка теорії розповсюдження і генерації звуку в легенях та створення об'єктивних акустичних методів, що можуть покращити діагностику захворювань, зокрема пневмоній.

В дитячій пульмонології використовують метод пульмофонографії [50]. При пульмофонографії на частотах у 80-120 Гц вимірюють потужність звуку, що проходить від рота до грудної клітки. Метою пульмофонографічного дослідження є визначення локальної вентиляції легень. Аналіз базується на математичній моделі поширення звуку по трахеобронхіальному дереву. Метод ґрунтується на поданні звукового сигналу з однаковою частотою та інтенсивністю у верхні дихальні шляхи пацієнта під час акту дихання і подальшим вимірювання змін амплітуди звуку, що повертається в процесі дихання. Методика заснована на факті амплітудної модуляції звукових коливань в процесі дихання. Разом з тим, широкого впровадження даний метод не отримав через неможливість перевіреної та правильної обробки інформації. Для інтерпретації даних потрібні складніші математичні моделі, що будуть враховувати піддатливість стінок бронхів і поширення звуку по легеневій тканині.

Наразі моделювання поширення звуку в легенях проводять цифровими методами шляхом застосування акустичних моделей [51]. Такі моделі можуть використовуватися для побудови акустичних зображень легень.

При акустичних методах діагностики дихальні шуми реєструються в певних точках над легенями [52] за допомогою електретних мікрофонів. При цьому сигнали посилюються, фільтруються і оцифровуються з подальшим математичним аналізом даних.

Дихальні шуми в нормі та патології мають низку характеристик, що ускладнює проведення їх аналізу за допомогою єдиного методу. Через те в роботах частіше розглядається тільки один тип шумів, і застосування таких діагностичних методів не набуло широкого розповсюдження в лікувальній практиці.

На теперішній час комп'ютерний аналіз дихальних шумів показав себе перспективним інструментом діагностики легеневих захворювань [53].

В пульмонології використовується метод комп'ютерної фоноспірографії, який візуалізує додаткові шуми над легенями. Метод ґрунтується на аналізі та оцінці двовимірних фоноспірограм та визначенні часу повного дихального циклу, тривалості видиху, а також відношення тривалості видиху до часу повного циклу дихання. Перевагами цього методу є покращення діагностики та проведення дослідження без активної участі пацієнта [54].

В педіатрії метод фонопульмографії набув певного поширення. За допомогою комп'ютерної фоноспірографії проводилося вивчення відхаркуючого фітопрепарату в комплексній терапії у дітей з гострим простим бронхітом (40 дітей віком від 3 до 16 років). Автори за допомогою комп'ютерного чотирьохканального комплексу «КоРА-03М1» проводили оцінювання тривалості дихального циклу, частотного діапазону та інтенсивності вдиху і видиху в динаміці лікування. В результаті дослідження було виявлено, що у дітей із гострим простим бронхітом спостерігається збільшення частотного діапазону вдиху та видиху, а також відображаються додаткові спектральні зміни при наявності сухих та вологих хрипів [55].

В.Г. Майданник та спів. також проводили вивчення дихальних шумів на основі методу комп'ютерної фоноспірографії (комп'ютерний чотирьохканальний комплекс «КоРА-03М1»). Цей комплекс застосовується для діагностики стану бронхолегеневої системи людини та проводить електронну аускультацию за допомогою 4 датчиків, що фіксуються на грудній клітині. Комплекс «КоРА-03М1» дозволяє визначити тип дихання та дати оцінку патологічним шумам. Всі дані записуються та зберігаються, що дає можливість повторного прослуховування файлів. Прилад складається з рухомої технологічної стійки з датчиками та робочого місця лікаря. Отримані сигнали візуалізуються на моніторі комп'ютера у вигляді фоноспірограм, які оцінюються лікарем [26].

Обмеженнями вище вказаного методу дослідження є низька мобільність установки через великі габарити самого приладу. Електронна аускультация проводиться за допомогою тільки 4 фіксованих датчиків. Це знижує можливості виявлення запальних змін в невеликих ділянках легень і обмежує топічну діагностику. Крім того, багаторазове використання датчиків неможливе в умовах пандемії COVID-19. Має значення той факт, що під час дослідження пацієнт повинен

стояти чи сидіти, що унеможлиблює використання приладу для пацієнтів, що знаходяться на ліжковому режимі та мають тяжкий стан.

Розшифровка і трактовка отриманих результатів фононоспірограм здійснюється лікарем, що може суб'єктивно вплинути на результат. Тому створення повністю автоматизованої системи контролю та оцінки дихальних шумів є актуальним завданням [26].

Існуюче наразі медичне діагностичне обладнання, що використовується для отримання акустичної інформації через електронні системи, не пристосоване до вимог пандемії, оскільки вимагає особливих методів дезінфекції. Також наразі гостро постала проблема ранньої діагностики запальних змін у легенях, що можна визначити за допомогою акустичного методу. Це важливо для діагностики пневмоній у дітей на ранніх стадіях захворювання, при безсимптомному або блискавичному перебігу захворювання або коли уражена ділянка легень знаходиться за ребром [56].

Нами та провідними спеціалістами Національного Авіаційного Університету розроблений експериментальний зразок пристрою акустичного спостереження для діагностики дихальних шумів над легенями. Такий пристрій в період пандемії COVID-19 полегшить діагностику захворювання, допоможе локалізувати зони ураження легень, провести акустичний моніторинг легень, в тому числі і дистанційно. Метод передбачає автоматизовану систему контролю та оцінки дихальних шумів з повним виключення людського фактору і з можливістю математичної обробки даних. Аналіз дихальних шумів проводиться за допомогою таких математичних методів, як авторегресія, дискримінантний аналіз, вейвлет-аналіз. Останній є перспективним методом виявлення нестационарних сигналів. Наразі проводяться дослідження для подальшого удосконалення приладу і методики обстеження. Наразі нами проводяться дослідження пацієнтів з пневмонією за допомогою нових акустичних методів діагностики.

ВИСНОВКИ

Існує широкий спектр променевих та ультразвукового методів дослідження дихальної системи, що дозволяють точно встановлювати діагноз, але мають певні обмеження у використанні в клінічній практиці, зокрема в педіатрії. Перспективним є розробка нових акустичних методів, що мають високу діагностичну цінність, відсутність додаткового опромінення та протипоказань.

REFERENCES

1. de Benedictis FM, Kerem E, Chang AB, Colin AA, Zar HJ, Bush A. Complicated pneumonia in children. *Lancet*. 2020 Sep 12;396(10253):786-798. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31550-6.

- View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673620315506>
Publisher site: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)31550-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)31550-6/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32919518/>
2. Nascimento-Carvalho CM. Community-acquired pneumonia among children: the latest evidence for an updated management. *J Pediatr (Rio J)*. 2020 Mar-Apr;96 Suppl 1:29-38. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.08.003.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021755719304930?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31518547/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7094337/>
3. Ministry of Health of Ukraine dated March 19, 2007 № 128 “On approval of clinical protocols for medical care in the specialty “Pulmonology” [in Ukrainian]
View at: Publisher site: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0128282-07#Text>
Instruction 00122. Pneumonia. Order of the Ministry of Health of Ukraine. [in Ukrainian]
View at: URL: https://moz.gov.ua/uploads/5/26129-dn_2106_17_09_2020_dod_1.pdf
4. Bansal T, Beese R. Interpreting a chest X-ray. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2019 May 2;80(5):C75-C79. DOI: 10.12968/hmed.2019.80.5.C75.
View at: Publisher site: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/hmed.2019.80.5.C75>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31059330/>
5. Pezzotti W. Chest X-ray interpretation: not just black and white. *Nursing*. 2014 Jan;44(1):40-7; quiz 47-8. DOI: 10.1097/01.NURSE.0000438704.82227.44.
View at: Publisher site: https://journals.lww.com/nursing/Fulltext/2014/01000/Chest_X_ray_interpretation__Not_just_black_and.12.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24281317/>
6. American College of Radiology. ACR Practice Guideline for the Performance of Pediatric and Adult Chest Radiography. American College of Radiology. Published 1995. Updated October 1, 2003.
View at: Publisher site: www.acr.org/s_acr/bin.asp?TrackID=&SID=1&DID=12187&CID=545&VID=2&DOC=File.pdf
7. Mokiya Serbina SA, Zabolotnaya NI, Gordeyeva AA. [Problems of antibiotic therapy of community acquired pneumonia in children of early and preschool age]. *Europejska nauka XXI powieka – 2017*; 10: 11-13. [in Ukrainian]
View at: Publisher site: <http://repo.dma.dp.ua/1898/>
8. Girina A.A., Zaplatnikov A.L., Kovaleva A.V., Kurgan A. Yu., Logacheva T.S. [Pediatrics Overdiagnosis of community-acquired pneumonia in children and ways to overcome it]. *Pediatrics*. 2018. 97 (2): 41-45. [in Russian]
View at: Publisher site: <https://pediatriajournal.ru/archive?show=363§ion=5182>

- Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/giperdiagnostika-vnebolnichnoy-pnevmoniy-u-detey-i-puti-ee-preodoleniya>
9. Bradley JS, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C, Kaplan SL, Mace SE, McCracken GH Jr, Moore MR, St Peter SD, Stockwell JA, Swanson JT; Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011 Oct;53(7):617-30. DOI: 10.1093/cid/cir625.
View at: Publisher site: <https://academic.oup.com/cid/article/53/7/617/424575>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21890766/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3202323/>
 10. Kong Weifang, Agarwal Prachi P. Chest imaging appearance of COVID-19 infection. *Radiology: Cardiothoracic Imaging*. 2020 Feb 13;2(1):e200028. DOI: 10.1148/ryct.2020200028.
View at: Publisher site: <https://pubs.rsna.org/doi/full/10.1148/ryct.2020200028>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33778544/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233424/>
 11. Choi H, Qi X, Yoon SH, Park SJ, Lee KH, Kim JY, Lee YK, Ko H, Ki HK, Park CM, Kim Y-H, Lei J, Hong JH, Kim H, Hwang EJ, Yoo SJ, Gang NJ, Lee CH, Goo JM. Extension of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on chest CT and implications for chest radiograph interpretation. *Radiology: Cardiothoracic Imaging*. 2020;2(2):e204001. DOI: 10.1148/ryct.2020200107.
View at: Publisher site: <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/ryct.2020200107>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33778565/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233433/>
 12. Wong H.Y.F., Lam H.Y.S., Fong A.H. et al. Frequency and distribution of chest radiographic findings in patients positive for COVID-19. *Radiology*. 2020;296(2):E72-E78. DOI: 10.1148/radiol.2020201160.
View at: Publisher site: <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2020201160>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32216717/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233401/>
 13. Trofimova T.N., Lukina O.V., Speranskaya A.A. [Coronavirus infection COVID-19. Part 5. Radiation research methods for COVID-19 and viral pneumonia]. 2020. [in Russian].
View at: URL: <https://www.lspbgmu.ru/images/home/covid19>
 14. Oterino Serrano C, Alonso E, Andrés M, Buitrago NM, Pérez Vígara A, Parrón Pajares M, Cuesta López E, Garzón Moll G, Martin Espin I, Bueno Barriocanal M, De Ceano-Vivas la Calle M, Calvo Rey C, Bret-Zurita M. Pediatric chest x-ray in covid-19 infection. *Eur J Radiol*. 2020 Oct;131:109236. DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.109236.
View at: Publisher site: [https://www.ejradiology.com/article/S0720-048X\(20\)30425-3/fulltext](https://www.ejradiology.com/article/S0720-048X(20)30425-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32932176/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7448740/>
 15. Morozov CP, Procenko DN, Smetanina SV, Andrejchenko AE, et al. [Radiation diagnosis of coronavirus disease (COVID-19): organization, methodology, interpretation of results]. Moscow, 2020. 60 p. [in Russian].
View at: URL: <https://niiroz.ru/upload/iblock/327/327ce53321e8c4c7c2a7653262179081.pdf>
 16. Kaw GJ, Tan DY, Leo YS, Tsou IY, Wansaicheong G, Chee TS. Chest radiographic findings of a case of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Singapore. *Singapore Med J*. 2003 Apr;44(4):201-4. PMID: 12952033.
View at: URL: <http://www.smj.org.sg/sites/default/files/4404/4404cr1.pdf>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12952033/>
 17. Roch L, Bianchi C, Castioni J, Beigelman-Aubry C. [Analysis of chest x-rays, a systematic to remember]. *Rev Med Suisse*. 2019 Nov 20;15(672):2137-2144. [in French.] PMID: 31746570.
View at: Publisher site: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2019/revue-medicale-suisse-672/analyse-de-la-radiographie-thoracique-une-systematique-a-rappeler>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31746570/>
 18. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, Liu L, Shan H, Lei CL, Hui DSC, Du B, Li LJ, Zeng G, Yuen KY, Chen RC, Tang CL, Wang T, Chen PY, Xiang J, Li SY, Wang JL, Liang ZJ, Peng YX, Wei L, Liu Y, Hu YH, Peng P, Wang JM, Liu JY, Chen Z, Li G, Zheng ZJ, Qiu SQ, Luo J, Ye CJ, Zhu SY, Zhong NS; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Apr 30;382(18):1708-1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
View at: Publisher site: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2002032>
 19. Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, Tao Q, Sun Z, Xia L. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology*. 2020 Aug;296(2):E32-E40. DOI: 10.1148/radiol.2020200642.
View at: Publisher site: <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2020200642>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32101510/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233399/>
 20. Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, Ji W.

- Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR. *Radiology*. 2020. DOI: 10.1148/radiol.2020200432.
View at: Publisher site: <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2020200432>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32073353/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233365/>
21. Choi H, Qi X, Yoon SH, Park SJ, Lee KH, Kim JY, Lee YK, Ko H, Ki HK, Park CM, Kim Y-H, Lei J, Hong JH, Kim H, Hwang EJ, Yoo SJ, Gang NJ, Lee CH, Goo JM. Extension of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on chest CT and implications for chest radiograph interpretation. *Radiology: Cardiothoracic Imaging*. 2020;2(2):e204001. DOI: 10.1148/ryct.2020200107.
View at: Publisher site: <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/ryct.2020200107>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33778565/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233433/>
22. Li W., Cui H., Li K., Fang Y., Li S. Chest computed tomography in children with COVID-19 respiratory infection. *Pediatr. Radiol.* 2020 May;50(6):796-799 DOI: 10.1007/s00247-020-04656-7.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00247-020-04656-7>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32162081/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7080075/>
23. Xia W., Shao J., Guo Y., Peng X., Li Z., Hu D. Clinical and CT features in pediatric patients with COVID-19 infection: different points from adults. *Pediatr. Pulmonol.* 2020;55(5):1169-1174. DOI: 10.1002/ppul.24718.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ppul.24718>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32134205/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7168071/>
24. Trufanov H.E., Fokyn V.A., Yvanov D.O. et al. Features of the application of methods of radiation diagnostics in pediatric practice. *Bulletin of modern clinical medicine*. 2013; 6(6):48-54. [in Russian].
25. Maidannyk V.H. [Community-acquired pneumonia in children: The use of azithromycin from the standpoint of evidence-based medicine]. *International Journal of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology*. 2014; 6(3): 55-82. [in Russian]
View at: Publisher site: <http://ijpog.org/4.15.9.html>
26. Eisenberg R.L. What Radiology Residents Need to Know: Chest Radiology.2020. DOI: 10.1007/978-3-030-16826-1_1.
View at: Scopus: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-16826-1_1
27. Gorbalenya A., Baker S., Baric R. & Coronaviridae Study group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. 2020; 5:536-544. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z.
View at: Publisher site: <https://www.nature.com/articles/s41564-020-0695-z>
28. Gumeniuk M. I., Gumeniuk G. L., Opimakh S. H. Efficacy of decamethoxine against complex viruses, regardless of their antigenic structure: prospects for use in modern viral diseases of the respiratory tract. *Topical infectology*. 2020; 8 (1): 36-44. DOI:10.22141/2312-413x.8.1.2020.196168. [in Ukrainian]
View at: Publisher site: <http://ai.zaslavsky.com.ua/article/view/196168>
MIF-ua: <http://www.mif-ua.com/archive/article/48771>
29. Foust AM., McAdam AJ, Chu WC, Garcia-Peña P, Phillips GS, Plut D, Lee EY. Practical guide for pediatric pulmonologists on imaging management of pediatric patients with COVID-19. *Pediatr. Pulmonol.* 2020 Sep;55(9):2213-2224. DOI: 10.1002/ppul.24870.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppul.24870>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32462724/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7283678/>
30. Strokova LA, Egorov EY. [Experience in conducting ultrasound examination of the lungs in community-acquired pneumonia COVID-19]. *Radiation diagnostics and therapy*. 2020; 11(2):99-106. DOI: 10.22328/2079-5343-2020-11-2-99-106 [in Russian].
View at: Publisher site: https://radiag.bmoc-spb.ru/jour/article/view/530?locale=ru_RU
URL: <https://radiag.bmoc-spb.ru/jour/article/viewFile/530/419>
31. Buonsenso D, Piano A, Raffaelli F, Bonadia N, de Gaetano Donati K, Franceschi F. Point-of-Care Lung Ultrasound findings in novel coronavirus disease-19 pneumoniae: a case report and potential applications during COVID-19 outbreak. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020 Mar;24(5):2776-2780. DOI: 10.26355/eurev_202003_20549.
View at: Publisher site: <https://www.europeanreview.org/article/20549>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32196627/>
32. Lu W, Zhang S, Chen B, Chen J, Xian J, Lin Y, Shan H, Su ZZ. A Clinical Study of Noninvasive Assessment of Lung Lesions in Patients with Coronavirus Disease-19 (COVID-19) by Bedside Ultrasound. *Ultraschall Med.*, 2020; 41(3): 300-307. DOI: 10.1055/a-1154-8795.
View at: Publisher site: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/a-1154-8795>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32294796/>
33. Pereda MA, Chavez MA, Hooper-Miele CC, Gilman RH, Steinhoff MC, Ellington LE, Gross M, Price C, Tielsch JM, Checkley W. Lung ultrasound for the diagnosis of pneumonia in children: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2015 Apr;135(4):714-22. DOI: 10.1542/peds.2014-2833.

- View at: Publisher site: <https://pediatrics.aappublications.org/content/135/4/714>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25780071/>
34. Huang Y, Wang S, Liu Y, Zhang Y, Zheng C, Zheng Y, Zhang C, Min W, Zhou H, Yu M, Hu M. A preliminary study on the ultrasonic manifestations of peripulmonary lesions of non-critical novel coronavirus pneumonia (COVID-19). 2020 February. DOI:10.2139/ssrn.3544750.
View at: Publisher site: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3544750
 35. Mayo PH, Copetti R, Feller-Kopman D, Mathis G, Maury E, Mongodi S, Mojoli F, Volpicelli G, Zanobetti M. Thoracic ultrasonography: a narrative review. *Intensive Care Med.* 2019 Sep;45(9):1200-1211. DOI: 10.1007/s00134-019-05725-8.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00134-019-05725-8>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31418060/>
 36. Buonsenso D, Pata D, Chiaretti A. COVID-19 outbreak: less stethoscope, more ultrasound. *Lancet Respir Med.* 2020 May;8(5):e27. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30120-X.
View at: Publisher site: [https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(20\)30120-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(20)30120-X/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32203708/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7104316/>
 37. Esposito S, Papa SS, Borzani I, Pinzani R, Giannitto C, Consonni D, Principi N. Performance of lung ultrasonography in children with community-acquired pneumonia. *Ital J Pediatr.* 2014 Apr 17;40:37. DOI: 10.1186/1824-7288-40-37.
View at: Publisher site: <https://ijponline.biomedcentral.com/articles/10.1186/1824-7288-40-37>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24742171/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4012508/>
 38. Copetti R, Cattarossi L. Ultrasound diagnosis of pneumonia in children. *Radiol Med.* 2008 Mar;113(2):190-8. DOI: 10.1007/s11547-008-0247-8.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11547-008-0247-8>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18386121/>
 39. Allinovi M, Parise A, Giacalone M, Amerio A, Delsante M, Odone A, Franci A, Gigliotti F, Amadasi S, Delmonte D, Parri N, Mangia A. Lung Ultrasound May Support Diagnosis and Monitoring of COVID-19 Pneumonia. *Ultrasound Med Biol.* 2020 Nov;46(11):2908-2917. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.07.018.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301562920303331>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32807570/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7369598/>
 40. Shah VP, Tunik MG, Tsung JW. Prospective evaluation of point-of-care ultrasonography for the diagnosis of pneumonia in children and young adults. *JAMA Pediatr.* 2013 Feb;167(2):119-25. DOI: 10.1001/2013.jamapediatrics.107.
View at: Publisher site: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/fullarticle/1558168>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23229753/>
 41. Guerra M, Crichiutti G, Pecile P, Romanello C, Busolini E, Valent F, Rosolen A. Ultrasound detection of pneumonia in febrile children with respiratory distress: a prospective study. *Eur J Pediatr.* 2016 Feb;175(2):163-70. DOI: 10.1007/s00431-015-2611-8.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00431-015-2611-8>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26283293/>
 42. Ho MC, Ker CR, Hsu JH, Wu JR, Dai ZK, Chen IC. Usefulness of lung ultrasound in the diagnosis of community-acquired pneumonia in children. *Pediatr Neonatol.* 2015 Feb;56(1):40-5. DOI: 10.1016/j.pedneo.2014.03.007.
View at: Publisher site: [https://www.pediatr-neonatal.com/article/S1875-9572\(14\)00096-5/fulltext](https://www.pediatr-neonatal.com/article/S1875-9572(14)00096-5/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25034957/>
 43. Liu H, Liu F, Li J, Zhang T, Wang D, Lan W. Clinical and CT imaging features of the COVID-19 pneumonia: Focus on pregnant women and children. *J Infect.* 2020 May;80(5):e7-e13. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.007.
View at: Publisher site: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(20\)30118-3/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(20)30118-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32171865/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7156118/>
 44. Biagi C, Pierantoni L, Baldazzi M, Greco L, Dormi A, Dondi A, Faldella G, Lanari M. Lung ultrasound for the diagnosis of pneumonia in children with acute bronchiolitis. *BMC Pulm Med.* 2018 Dec 7.18(1):191. DOI: 10.1186/s12890-018-0750-1.
View at: Publisher site: <https://bmcpulmmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12890-018-0750-1>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30526548/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6286612/>
 45. Petrykov SS, Popova YE, Abuchyna VM, Muslymov RS, Khamydova LT, Popuhaev KA, Kokov LS. [Diagnostic capabilities of ultrasound diagnostics of lung changes compared to computed tomography in COVID-19]. 2020. *Sechenov Bulletin.* 2020; [in Russian] 11(2):5-18. DOI: 10.47093/2218-7332.2020.11.2.5-18
View at: Publisher site: https://www.sechenovmedj.com/jour/article/view/237?locale=ru_RU
Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/diagnosticheskie-vozmozhnosti-ultrazvukovoy-diagnostiki-izmeneniy-legkih-po-sravneniyu-s-kompyuternoy-tomografiy-pri-covid-19>
 46. Allinovi M, Parise A, Giacalone M, et al. Lung Ultrasound May Support Diagnosis and Monitoring of COVID-19 Pneumonia. *Ultrasound Med Biol.* 2020;46(11):2908-2917. DOI: 10.1016/j.

- ultrasmedbio.2020.07.018
View at:
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301562920303331>
Publisher site: [https://www.umbjournal.org/article/S0301-5629\(20\)30333-1/fulltext](https://www.umbjournal.org/article/S0301-5629(20)30333-1/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32807570/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7369598/>
47. Soldati G, Smargiassi A, Inchingolo R, Buonsenso D, Perrone T, Briganti DF, Perlini S, Torri E, Mariani A, Mossolani EE, Tursi F, Mento F, Demi L. Is There a Role for Lung Ultrasound During the COVID-19 Pandemic? *J Ultrasound Med.* 2020 Jul;39(7):1459-1462. DOI: 10.1002/jum.15284.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jum.15284>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32198775/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228238/>
48. Foust AM, McAdam AJ, Chu WC, et al. Practical guide for pediatric pulmonologists on imaging management of pediatric patients with COVID-19. *Pediatr Pulmonol.* 2020;55(9):2213-2224. DOI:10.1002/ppul.24870
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppul.24870>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32462724/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7283678/>
49. Dyachenko AI. Respiratory acoustics (review). A study of acoustical characteristics of the human lungs and chest wall by means of external vibrations. 2012.
50. Ozer MB, Acikgoz S, Royston TJ, Mansy HA, Sandler RH. Boundary element model for simulating sound propagation and source localization within the lungs. *J Acoust Soc Am.* 2007 Jul;122(1):657-61. DOI: 10.1121/1.2715453.
View at: Publisher site: <https://asa.scitation.org/doi/10.1121/1.2715453>
- PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17614522/>
51. Pressler GA, Mansfield JP, Pasterkamp H, Wodicka GR. Detection of respiratory sounds at the external ear. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2004 Dec;51(12):2089-96. DOI: 10.1109/TBME.2004.836525.
View at: Publisher site: <https://ieeexplore.ieee.org/document/1360027>
Europe PMC: <http://europepmc.org/article/MED/15605855>
52. Murphy R. Computerized multichannel lung sound analysis. Development of acoustic instruments for diagnosis and management of medical conditions. *IEEE Eng Med Biol Mag.* 2007 Jan-Feb;26(1):16-9. DOI: 10.1109/memb.2007.289117.
View at: Publisher site: <https://ieeexplore.ieee.org/document/4069351>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17278768/>
Utility model patent № 99945 dated 25.06.2015. [in Ukrainian]
53. Synoverska OB, Makian SV. The effectiveness of the drug «Gerbion ivy syrup» in the treatment of children with acute bronchitis. *Modern pediatrics.* 2015.1(65):50-56. [in Ukrainian]. DOI 10.15574/SP.2015.65.50
View at: Publisher site: <https://med-expert.com.ua/journals/jeffektivnost-preparata-gerbion-sirop-pljushha-v-lechenii-detej-s-ostrym-bronhitom/>
54. Isaienko V, Kharchenko V, Astanin V, Shchegel G, Olefir V, Olefir O, Olefir A, Khomych O, Khomych V. Acoustic diagnostic system and symptomatic assistance to COVID-19 patients for use in extreme conditions “Trembita-Corona NAU”. *Bulletin of the National Aviation University.* 2020; 1(82): 58-63.
View at: Publisher site: <http://jrnل.nau.edu.ua/index.php/visnik/article/view/14612>

Article history
Received: 05.06.2021
Revision requested: 15.06.2021
Revision received: 21.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛУЧЕВЫХ И АКУСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ПНЕВМОНИИ, В ТОМ ЧИСЛЕ ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-COV-2, У ДЕТЕЙ. Обзор

¹Марушко Ю.В., ¹Хомич О.В., ¹Гищак Т.В., ¹Таринская О.Л., ²Щегель А.А.

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

²Национальный авиационный университет, Киев, Украина

khomychov@gmail.com

Актуальность. Пневмония остается актуальной проблемой практической медицины. Диагностика пневмонии на разных этапах лечения достаточно сложная и требует комплексного исследования с учетом как клинических симптомов, так и результатов параклинических методов исследования.

Цель: обобщить данные литературы и собственный опыт использования современных лучевых и акустических методов диагностики пневмонии.

Методы. Анализ научных публикаций в международных электронных наукометрических базах данных Scopus, PubMed по ключевым словам. Глубина поиска – 15 лет (2007-2021 гг.).

Результаты. Проанализирована диагностика пневмонии на разных этапах лечения. Описаны показания и противопоказания к использованию, преимущества и недостатки рентгенологического метода, метода компьютерной томографии и ультразвуковой диагностики. Приведена характеристика нового метода аппаратной диагностики, без внешнего облучения, которая дает возможность проводить первичную акустическую дистанционную диагностику пневмонии.

Вывод: На сегодня существует широкий спектр инструментальных методов исследования дыхательной системы, позволяющих точно устанавливать диагноз, но имеются также определенные ограничения в использовании в клинической практике, в частности в педиатрии. Перспективным является разработка новых акустических методов, имеющих высокую диагностическую ценность, отсутствие дополнительного облучения и противопоказаний.

Ключевые слова: пневмония, пульмофонография, диагностика, дети, COVID-19.

STATE OF THE ART USAGE OF RADIOLOGICAL AND ACOUSTIC METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF PNEUMONIA, INCLUDING THOSE CAUSED BY SARS-COV-2 VIRUS, IN CHILDREN. Review

¹Marushko Y.V., ¹Khomych O.V., ¹Hyshchak T.V., ¹Tarynska O.L., ²Shchegel G.O.

¹Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

²National Aviation University, Kyiv, Ukraine

khomychov@gmail.com

Relevance. Pneumonia is an actual problem of practical medicine. Diagnosis of pneumonia is quite complex and requires a comprehensive study, taking into account both clinical symptoms and the results of paraclinical research methods.

Objective. The aim of the work is to generalize the data of the literature and our own experience of modern radiological and acoustic methods of pneumonia diagnosis.

Methods. Analysis of scientific publications in the international electronic scientometric databases Scopus, PubMed by keywords. Search depth – 15 years (2007-2021).

Results. The article summarizes its own data and presents a scientific review of the medical literature, which is devoted to the analysis of the problem of diagnosing pneumonia at different stages of treatment. Indications and contraindications to use, advantages and disadvantages of X-ray method, CT method and ultrasound diagnostics are described. The characteristic of a new method of hardware diagnostics which without external irradiation gives the chance to carry out primary acoustic remote diagnostics of pneumonia is resulted.

Conclusion. Today there is a wide range of instrumental methods of studying the respiratory system that allow accurate diagnosis, but have some limitations in use in clinical practice, in particular in pediatrics. Promising is the development of new acoustic methods that have high diagnostic value, lack of additional radiation and contraindications.

Key words: pneumonia, pulmonophography, diagnosis, children, COVID-19.

ФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ВТОМИ. Огляд**Маракушин Д.І.** <https://orcid.org/0000-0002-0956-9776>**Чернобай Л. В.** <https://orcid.org/0000-0003-4345-4785>**Ващук М.А.** <https://orcid.org/0000-0002-7649-4495>**Ісаєва І.М.** <https://orcid.org/0000-0003-2941-5587>**Кармазіна І.С.** <https://orcid.org/0000-0002-7985-8602>**Мамон М.О.** <https://orcid.org/0000-0003-2565-9541>**Головко М.Д.***Харківський національний медичний університет, Харків, Україна*

inisaeva@ukr.net

Актуальність. Втома, як інтелектуальна, так і фізична, знижує ефективність повсякденної діяльності та якість життя, крім того, втома є одним з факторів, що сприяють розвитку різних патологічних станів, таких як серцево-судинні захворювання та інші. Таким чином, важливо з'ясувати механізми, що лежать в основі розвитку втоми, що поліпшить профілактику її розвитку.

Ціль: проаналізувати фізіологічні та біохімічні механізми, що лежать в основі розвитку втоми.

Методи. Аналіз наукових публікацій міжнародної наукомеричної бази даних PubMed за ключовими словами. При написанні роботи були використані такі методи дослідження: систематизація матеріалу, аналіз та узагальнення.

Результати. Розглянуті фізіологічні та біохімічні механізми втоми. Простежується кореляція між загальним психічним станом людини, фізіологічними, біохімічними процесами, діяльністю неротрансмітерів, інтелектуальною та фізичною діяльністю, харчуванням. Виділяють центральні та периферійні механізми розвитку втоми. Центральна втома розділяється на спинномозкову та супраспинальну та залучає нервово-м'язове сполучення. Периферична втома виникає на рівні м'язів і переважно включає біоенергетику м'язів або сполучення збудження та скорочення.

Сучасні дослідження характеризують втому як загальну реакцію на стрес, що триває протягом певного періоду, враховуючи кумулятивні ефекти протягом днів, тижнів чи місяців, також дуже важливими є наслідки порушення звичок сну, тому що ефекти втоми тісно пов'язані з наслідками недосипу. Тому, необхідний для відновлення час, залежить від ступеня вираженості втоми. На теперішній час існує багато методів дослідження, таких як електроміографія, транскраніальна магнітна стимуляція, магнітно-резонансна томографія та спектроскопія, які є корисними для з'ясування фізіологічних корелятивів втоми.

В свою чергу, психологічні, поведінкові або фізичні тригери можуть мати сприятливий ефект проти розвитку гострої втоми і покращувати працездатність, також надають можливість кращого розуміння функції нейротрансмітерів, фізіологічних та біохімічних процесів важливих у розвитку втоми організму у цілому.

Ключові слова: центральна та периферійна втома, нейротрансмітери, інтелектуальна працездатність, фізична працездатність, механізми розвитку втоми.

Актуальність. Втома, як інтелектуальна, так і фізична, знижує ефективність повсякденної діяльності та якість життя, крім того, втома є одним з факторів, що сприяють розвитку різних патологічних станів, таких як серцево-судинні захворювання та інші. Таким чином, важливо з'ясувати механізми, що лежать в основі розвитку втоми, що поліпшить профілактику її розвитку.

Ціль: проаналізувати фізіологічні та біохімічні механізми, що лежать в основі розвитку втоми.

МЕТОДИ

Аналіз наукових публікацій міжнародної наукомеричної бази даних PubMed за ключовими словами. При написанні роботи були використані такі методи дослідження: систематизація матеріалу, аналіз та узагальнення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Втому можна розділити на психічну та фізичну залежно від її причини, і кожен тип втоми має багато-

факторну природу. Втома визначається як зниження здатності та ефективності інтелектуальної або фізичної активності, викликана надмірною активністю або захворюваннями. Втома часто супроводжується особливим почуттям дискомфорту, бажанням відпочити і зниженням мотивації. Поведінкові, електрофізіологічні та нейровізуалізаційні дослідження з використанням таких методів, як функціональна магнітно-резонансна томографія (фМРТ), позитронно-емісійна томографія (ПЕТ) і магнітоенцефалографія, прояснюють деякі нервові механізми, що лежать в основі гострої фізичної втоми людини, гострого психічного розладу, хронічної втоми, стомлюваності, пов'язаної із захворюваннями [1, 2].

Щодо гострої інтелектуальної втоми, дослідниками була запропонована концептуальна модель, пов'язана з виконанням когнітивних завдань, як «система подвійної регуляції». У цій моделі інтелектуальне робоче навантаження активує систему сприяння, за для підтримки виконання когнітивних завдань при

навантаженості інтелектуальної втоми. Таламо-фронтальна петля, яка пов'язує лімбічну систему, базальні ганглії, таламус, становить систему ментального сприяння, і збільшення мотиваційного впливу на цю систему збільшує її активацію. Однак інтелектуальне навантаження також активує систему гальмування, що погіршує виконання когнітивних завдань. Острівцеві та задня цингулярна кора беруть участь в системі психічного гальмування. Отже, гостре інтелектуальне навантаження активує системи підтримки і гальмування, що призводить до гострої інтелектуальної втоми [1, 2, 3]. Активація системи сприяння підтримує або поліпшує виконання когнітивних завдань, тоді як активація системи гальмування погіршує виконання когнітивних завдань. Баланс між активацією цих двох систем підтримує виконання когнітивного завдання. Тобто, виконання когнітивних завдань регулюється цими двома системами через систему подвійної регуляції [1, 4, 5]. Поліпшення системи фізичної або психічної допомоги з використанням психологічних, поведінкових або фізичних тригерів може мати сприятливий профілактичний ефект розвитку гострої втоми і покращувати працездатність. Однак надмірне поліпшення системи сприяння за рахунок функцій може викликати дисфункцію системи і привести до подальшого стомлення. При цьому порушення системи спрощення формальностей призводять до труднощів в управлінні системою. Мотивація підсилює систему фасилітації, тоді як подальше вдосконалення системи фасилітації викликає подальшу дисфункцію системи, що може викликати хронічну або накопичену втому [6, 7, 8].

Центральні механізми з більшою ймовірністю сприяють стомленню, що виникає при нормальній повсякденній діяльності. Крім того, відчуття втоми є звичайним явищем в таких ситуаціях, як післяопераційне відновлення, порушення зміни часових поясів, позбавлення сну, сонливість після їжі і синдром хронічної втоми [2, 7]. Однак дослідники почали приділяти більше уваги можливим механізмам стомлення, що стосуються ЦНС. Так, прямі докази центральної втоми були отримані при використанні нової аналітичної техніки – транскраніальної магнітної стимуляції. За допомогою цього методу магнітна стимуляція моторної кори викликає потенціал дії на альфа-мотонейронах хребетного стовпа і, в свою чергу, на нервово-м'язовому з'єднанні [8, 9, 10]. Серотонін (5-гідрокси; 5-НТ), дофамін і норадреналін відіграють ключову роль у передачі сигналів між нейронами, особливо викликаних фізичним навантаженням, що призводить до змін концентрацій цих нейротрансмітерів (особливо 5-НТ і дофамін). Їх пов'язують з центральною стомлюваністю, тобто стомлюваністю, яка виникає через зміни в центральній нервовій системі [11, 12].

Також відомо, що статус харчування може змінювати нейрохімію мозку, особливо ту, яка включає вуг-

леводи і нейромедіатор серотонін в поєднанні з різними психологічними та іншими розладами, включаючи депресію, передменструальний синдром, сонливість, порушення сприйняття, сезонний афективний розлад, всі з яких включають втому як загальний симптом [13, 14].

Існують дані, які вказують на роль нейротрансмітера 5-НТ і, можливо, дофаміну в розвитку центральної втоми під час тривалих вправ. Ньюсхолм у 1987 році сформулював гіпотезу про те, що через свій добре відомий вплив на збудження, летаргію, сонливість і настрої 5-НТ може грати роль можливого посередника центральної втоми. Також була висунута гіпотеза, що вправи можуть впливати на важливі чинники, які контролюють синтез і обмін 5-НТ в головному мозку. Ця гіпотеза припускає, що підвищена кількість 5-НТ в головному мозку може привести до центральної втоми під час тривалих вправ, що вплине на фізичну працездатність [13]. Підвищений синтез 5-НТ в головному мозку відбувається у відповідь на збільшення доставки з кров'ю триптофану, попередника амінокислоти 5-НТ. Велика частина триптофану в плазмі крові циркулює зв'язано з альбуміном; проте непов'язаний або вільний триптофан транспортується через гематоенцефалічний бар'єр. Цей транспорт відбувається через специфічні рецептори, які триптофан розділяє з іншими нейтральними амінокислотами, в першу чергу з амінокислотами з розгалуженим ланцюгом, лейцином, ізолейцином і валіном. Таким чином, синтез 5-НТ в головному мозку збільшується при підвищенні відношення концентрації вільного триптофану в плазмі крові до загальної концентрації нейтральних амінокислот в плазмі [13, 15].

Фізичні вправи – не єдина умова, при якій зміни в поглинанні триптофану і метаболізмі 5-НТ в мозку були пов'язані зі зміною поведінки. Хоча поглинання триптофану в головному мозку досить стабільно в багатьох умовах, іммобілізаційний стрес або прийом їжі з високим вмістом вуглеводів може збільшити поглинання [15]. Поглинання триптофану також підвищується у літніх людей і в осіб з депресією, різними порушеннями апетиту, печінковою недостатністю і нирковою недостатністю. Однак механізм підвищеного поглинання триптофану мозком часто відрізняється в різних умовах. Наприклад, іммобілізаційний стрес, ймовірно, збільшує поглинання триптофану за рахунок посилення кінетики транспорту триптофану (та інших амінокислот) в мозок. Їжа з високим вмістом вуглеводів стимулює поглинання триптофану мозком за рахунок індукованого інсуліном зниження концентрації в плазмі конкуруючих нейтральних амінокислот і жирних кислот [13, 15].

Комбінація цих механізмів може виникати при старінні. Більш того, механізм захоплення триптофану може залежати від конкретної ситуації, в якій про-

водиться лікування. Наприклад, прийом вуглеводів надає протилежний вплив на поглинання триптофану мозком в залежності від того, чи знаходиться суб'єкт в спокої або виконує енергійні вправи. У стані спокою захоплення триптофану мозком прискорюється через індуковане інсуліном зниження концентрації в плазмі конкуруючих великих нейтральних амінокислот і жирних кислот. Однак під час інтенсивних вправ вивільнення інсуліну знижено, а поглинання триптофану мозком послаблюється через зниження мобілізації жирних кислот і концентрацій жирних кислот і вільного триптофану в плазмі [13, 14]. Низьке співвідношення 5-НТ до дофаміну в мозку сприяє поліпшенню працездатності (тобто збільшення збудження, мотивації та оптимальної нервово-м'язової координації), тоді як високе відношення 5-НТ до дофаміну сприяє зниженню працездатності (наприклад, зниження мотивації, летаргія, втома і втрата координації рухів). Останнє буде являти собою центральне стомлення [15].

Кращий причинно-наслідковий зв'язок між підвищенням 5-НТ мозку і стомлюваністю було продемонстровано в серії експериментів, що включають фармакологічні зміни в активності 5-НТ мозку під час досліджень на щурах. Було припущено, якщо 5-НТ можна буде штучно збільшити за допомогою агоністів 5-НТ (збільшують активність 5-НТ), втома настане раніше. Навпаки, якщо вводилися антагоністи 5-НТ (знижують активність 5-НТ мозку), стомлення уповільнювалося [13, 15].

При багатьох захворюваннях м'язова втома збільшується і обмежує повсякденне життя. Такі розлади включають неврологічні, м'язові, серцево-судинні та респіраторні захворювання, старіння і слабкість, а також будь-які розлади, які викликають бездіяльність і призводять до погіршення стану організму у цілому [16].

Нейротрансмітери також грають ключову роль в контролі терморегуляції і, як вважається, опосередковують терморегуляторні реакції. Серотонінергічні (5-НТ), норадренергічні і дофамінергічні шляхи до гіпоталамусу вказують на їх ключову роль в регуляції температури. Отже, можна вважати, що порушення позаклітинної концентрації нейромедіаторів будуть сприяти змінам в терморегуляції і, як наслідок, виникненню втоми, особливо при фізичному навантаженні в теплому середовищі [17, 18]. Мозкові механізми, відповідальні за стомлення під час фізичного навантаження, складні і, ймовірно, включають інтегративні шляхи. При нормальній температурі навколишнього середовища маніпуляції з моноамінергічними нейротрансмітерами під час вправ дають неоднозначні результати. Ефекти стають більш очевидними при виконанні вправ при високих температурах навколишнього середовища, і система терморегуляції може мати важливий вплив на пра-

цездатність [18].

Тісний зв'язок між центральною нервовою системою і м'язом визначається моторною одиницею. Центральна нервова система за допомогою безлічі збуджуючих і гальмуючих входів і внутрішніх властивостей мотонейрона в кінцевому підсумку активує моторну одиницю для досягнення вихідної сили [19, 20]. Низхідна серотонінергічна система може знижувати збудливість мотонейронів і сприяти стомленню або за рахунок припинення його стимулюючих дій на дендрити, як це може відбуватися при тривалих вправах, або активацію його гальмівних позасинаптичних рецепторів при сильних скороченнях [20]. Крім внутрішніх змін властивостей мотонейронів, за допомогою нейромодуляторних систем, збудливість пулу мотонейронів може модулюватися аферентним зворотним зв'язком [21].

Під час стомлюючих вправ в нервовій системі відбувається безліч змін. Деякі з них сприяють стомленню, а інші компенсують виконання завдання, незважаючи на зниження м'язової сили. Ці зміни є результатом комбінації впливів на мотонейрони, включаючи зміни внутрішніх властивостей, аферентів і низхідних нейромодулюючих і синаптичних імпульсів. У свою чергу, кожен аферентний сигнал взаємодіє з вегетативною нервовою системою, а також з різними рівнями рухової системи, а також сприяє розвитку відчуття дискомфорту і втоми в м'язах [22, 23].

Також, модуляція нейротрансмітерів мозку може впливати на витривалість, що відбувається особливо при підвищеній температурі середовища, і може являти собою взаємодію гомеостатичних функцій, таких як регулювання температури, з руховою системою і сприяти розвитку відчуття втоми. Таким чином, зміни в нервово-м'язовій, сенсорній і гомеостатичній системах можуть сприяти стомленню [23, 24].

Доцільно проаналізувати вплив інтелектуальної втоми на ЦНС за допомогою електроенцефалографії (ЕЕГ), при цьому різні типи інтелектуального стомлення викликають різні види змін спонтанних ЕЕГ [10].

Спонтанна ЕЕГ – це найбільш точний індикатор стомлюваності. Електрична активність мозку класифікується відповідно за ритмами, які визначаються відповідно до частотних діапазонів, включаючи бета, альфа, тета і дельта. Кожна частота пов'язана з певною внутрішньою обробкою інформації в центральній нервовій системі. Отже, зміни потужності ЕЕГ в стані спокою, викликані інтелектуальною втомою, можуть дати цінні ключі до розгадки її нейронних механізмів [25]. Результати дослідження (Joshua C. Felver, Amanda S Bruce, Molly Zimmerman, Mark S Aloia, 2007) інтелектуальної втоми за допомогою використання монотонної імітаційної задачі водіння або нейропсихологічного тесту Струпа протягом 90 хвилин без перерви показали, що щільність тета-по-

тужності на площу лобної ділянки електрода ЕЕГ була збільшена після виконання завдань, що викликає розумове стомлення. Повідомлялося, що щільність тета-потужності пов'язана з сонливістю [25, 26]. Оскільки сон – одна з найбільш ефективних стратегій відновлення після стомлення, сонливість, викликана інтелектуальною втомою, може відображати внутрішні процеси, призначені для задоволення потреби у відновленні після втоми. В якості альтернативи, оскільки тета-коливання, що виникають переважно з фронто-центральної ділянок, збільшуються через навантаження на робочу пам'ять, зміна щільності тета-потужності може бути викликана навантаженням на робочу пам'ять при виконанні 30-хвилинних випробувань [26, 27]. Оскільки мультимодальна і високорівнева обробка інформації пов'язана з бета- і альфа- щільностями потужності, відповідно, зниження щільності потужності бета- і альфа-ритмів в умовах розумової втоми вказує на погіршення мультимодальної та високорівневої обробки інформації в центральній нервовій системі [26, 27]. Більшість ділянок, які показали зміни щільності потужності бета- і альфа-випромінювання, розташовані близько до візуальних областей. Більш високе розумове навантаження вимагає більше зорової пам'яті і має на увазі більше зорової роботи в різних зорових областях для розвитку, пов'язаних з втомою, змін щільності потужності ЕЕГ в задніх областях, пов'язаних з обробкою зорової інформації. Таким чином, більш високе інтелектуальне навантаження може запускати процеси, які викликають погіршення мультимодальної та високорівневої обробки інформації, в той час як більш слабе інтелектуальне навантаження може викликати менше змін [26, 27].

ВИСНОВКИ

Механізми, що призводять до розвитку втоми, можуть бути центральними або периферійними. Центральна втома підрозділяється на спинномозкову та супраспинальну та залучає нервово-м'язовий зв'язок. Периферична втома виникає на рівні м'язів і переважно включає біоенергетику м'язів або сполучення збудження та скорочення.

Втома може виникати як загальна реакція на стрес, що триває протягом певного періоду, враховуючи кумулятивні ефекти протягом днів, тижнів чи місяців. Ефекти втоми тісно пов'язані з наслідками недосипу. Необхідний для відновлення час залежить від ступеня вираженості втоми.

Електроміографія, транскраніальна магнітна стимуляція, магнітно-резонансна томографія та спектроскопія – методи, які є корисними для з'ясування фізіологічних корелятивів втоми.

Психологічні, поведінкові або фізичні тригери можуть мати сприятливий ефект проти розвитку гострої втоми і покращувати працездатність, також надають

можливість кращого розуміння функції нейротрансмітерів, фізіологічних та біохімічних процесів, важливих у розвитку втоми тіла уцілому.

REFERENCES

1. Tanaka M, Watanabe Y. Supraspinal regulation of physical fatigue. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012 Jan;36(1):727-34. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2011.10.004. View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0149763411001862?via%3Dihub> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22040772/>
2. Ickmans K, Meeus M, Kos D, Clarys P, Meersdom G, Lambrecht L, Pattyn N, Nijs J. Cognitive performance is of clinical importance, but is unrelated to pain severity in women with chronic fatigue syndrome. *Clin Rheumatol.* 2013 Oct;32(10):1475-85. DOI: 10.1007/s10067-013-2308-1. View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10067-013-2308-1> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23737111/>
3. Tanaka M, Ishii A, Watanabe Y. Fatigue in the Central Nervous System. *Austin J Clin Neurol.* 2015;2(1):1020. ISSN : 2381-9154. View at: Publisher site: <https://austinpublishinggroup.com/clinical-neurology/fulltext/ajcn-v2-id1020.php>
4. Chaudhuri A, Behan PO. Fatigue and basal ganglia. *J Neurol Sci.* 2000 Oct 1;179(S 1-2):34-42. DOI: 10.1016/S0022-510X(00)00411-1. View at: Publisher site: [https://www.jns-journal.com/article/S0022-510X\(00\)00411-1/fulltext](https://www.jns-journal.com/article/S0022-510X(00)00411-1/fulltext) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11054483/>
5. Chaudhuri A, Behan PO. Fatigue in neurological disorders. *Lancet.* 2004 Mar 20;363(9413):978-88. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15794-2. View at: Scopus: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(04\)15794-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(04)15794-2/fulltext) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15043967/>
6. Ishii A, Tanaka M, Watanabe Y. Neural mechanisms of mental fatigue. *Rev Neurosci.* 2014;25(4):469-79. DOI: 10.1515/revneuro-2014-0028. View at: Publisher site: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/revneuro-2014-0028/html> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24926625/>
7. Peltier SJ, LaConte SM, Niyazov DM, Liu JZ, Sahgal V, Yue GH, Hu XP. Reductions in interhemispheric motor cortex functional connectivity after muscle fatigue. *Brain Res.* 2005 Sep 28;1057(1-2):10-6. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.06.078. View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006899305009625?via%3Dihub> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16140287/>
8. Filippi M, Rocca MA, Colombo B, Falini A, Codella M, Scotti G, Comi G. Functional magnetic resonance imaging correlates of fatigue in multiple sclerosis. *Neuroimage.* 2002 Mar;15(3):559-67. DOI: 10.1006/nimg.2001.1011. View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1053811901910110?via%3Dihub>

- PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11848698/>
9. DeLuca J, Genova HM, Hillary FG, Wylie G. Neural correlates of cognitive fatigue in multiple sclerosis using functional MRI. *J Neurol Sci*. 2008 Jul 15;270(1-2):28-39. DOI: 10.1016/j.jns.2008.01.018.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022510X08000476>
Publisher site: [https://www.jns-journal.com/article/S0022-510X\(08\)00047-6/abstract](https://www.jns-journal.com/article/S0022-510X(08)00047-6/abstract)
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/18336838>
 10. Stein A, Sarnthein J. Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. *Int J Psychophysiol*. 2000;38(3):301-313. DOI: 10.1016/S0167-8760(00)00172-0
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167876000001720>
Publisher site: <https://psycnet.apa.org/record/2000-14241-007>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/11102669>
 11. Pascual-Leone A, Nguyet D, Cohen LG, Brasil-Neto JP, Cammarota A, Hallett M. Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills. *J Neurophysiol*. 1995 Sep;74(3):1037-45. DOI: 10.1152/jn.1995.74.3.1037.
View at: Publisher site: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/jn.1995.74.3.1037>
 12. PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7500130/>
 13. Laporte AM, Doyen C, Nevo IT, Chauveau J, Hauw JJ, Hamon M. Autoradiographic mapping of serotonin 5-HT1A, 5-HT1D, 5-HT2A and 5-HT3 receptors in the aged human spinal cord. *J Chem Neuroanat*. 1996;11(1):67-75. DOI: 10.1016/0891-0618(96)00130-5
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0891061896001305?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8841890/>
 14. Cordeiro L., Rabelo P, Moraes MM, Teixeira-Coelho F, Coimbra CC, Wanner SP, Soares DD. Physical exercise-induced fatigue: the role of serotonergic and dopaminergic systems. *Brazilian journal of medical and biological research*. 2017; 50(12), e6432. DOI: 10.1590/1414-431X20176432
View at: Publisher site: <https://www.scielo.br/j/bjmr/a/v7RQZtcwVMYJGRJv7mnGxC/?lang=en>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29069229/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5649871/>
 15. Fernstrom JD. Dietary amino acids and brain function. *J Am Diet Assoc*. 1994 Jan;94(1):71-7. DOI: 10.1016/0002-8223(94)92045-1.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0002822394920451>
Publisher site: [https://jandonline.org/article/0002-8223\(94\)92045-1/abstract](https://jandonline.org/article/0002-8223(94)92045-1/abstract)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7903674/>
 16. Kennett GA, Curzon G, Hunt A, Patel AJ. Immobilization decreases amino acid concentrations in plasma but maintains or increases them in brain. *J Neurochem*. 1986 Jan;46(1):208-12. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1986.tb12947.x
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1471-4159.1986.tb12947.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3940281/>
 17. Bigland-Ritchie B, Jones DA, Hosking GP, Edwards RH. Central and peripheral fatigue in sustained maximum voluntary contractions of human quadriceps muscle. *Clin Sci Mol Med*. 1978 Jun;54(6):609-14. DOI: 10.1042/cs0540609.
View at: Publisher site: <https://portlandpress.com/clin-sci/article-abstract/54/6/609/70900/Central-and-Peripheral-Fatigue-in-Sustained?redirectedFrom=fulltext>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/657729/>
 18. Brownstone RM, Krawitz S, Jordan LM. Reversal of the late phase of spike frequency adaptation in cat spinal motoneurons during fictive locomotion. *Journal of neurophysiology*. 2011; 105(3): 1045-1050. DOI: 10.1152/jn.00411.2010
View at: Publisher site: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/jn.00411.2010>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21177992/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5061562/>
 19. Roelands B, Meeusen R. Alterations in central fatigue by pharmacological manipulations of neurotransmitters in normal and high ambient temperature. *Sports Med*. 2010 Mar 1;40(3):229-46. DOI: 10.2165/11533670-000000000-00000.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.2165%2F11533670-000000000-00000>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20199121/>
 20. Hasegawa H, Piacentini MF, Sarre S, Michotte Y, Ishiwata T, Meeusen R. Influence of brain catecholamines on the development of fatigue in exercising rats in the heat. *The Journal of physiology*. 2008; 586(1): 141-149. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.142190
View at: Publisher site: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/jphysiol.2007.142190>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17947314/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2375558/>
 21. Heckman CJ, Enoka RM. Motor unit. *Compr Physiol*. 2012 Oct;2(4):2629-82. DOI: 10.1002/cphy.c100087.
View at: Publisher site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.c100087>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23720261/>
 22. Kennedy DS, McNeil CJ, Gandevia SC, Taylor JL. Effects of fatigue on corticospinal excitability of the human knee extensors. *Exp Physiol*. 2016 Dec 1;101(12):1552-1564. DOI: 10.1113/EP085753.
View at: Publisher site: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/EP085753>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27652591/>
 23. Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human

- muscle fatigue. *Physiol Rev.* 2001 Oct;81(4):1725-89. DOI: 10.1152/physrev.2001.81.4.1725. View at: Publisher site: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.2001.81.4.1725> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11581501/>
24. Pollak KA, Swenson JD, Vanhaitsma TA, Hughen RW, Jo D, White AT, Light KC, Schweinhardt P, Amann M, Light AR. Exogenously applied muscle metabolites synergistically evoke sensations of muscle fatigue and pain in human subjects. *Exp Physiol.* 2014 Feb;99(2):368-80. DOI: 10.1113/expphysiol.2013.075812. View at: Publisher site: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/expphysiol.2013.075812> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24142455/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3946674/>
25. Lal SK, Craig A. A critical review of the psychophysiology of driver fatigue. *Biol Psychol.* 2001 Feb;55(3):173-94. DOI: 10.1016/S0301-0511(00)00085-5. View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301051100000855?via%3Dihub> Publisher site: <https://psycnet.apa.org/record/2001-17012-001> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11240213/> PubMed Central:
26. Gasser T, Bächer P, Möcks J. Transformations towards the normal distribution of broad band spectral parameters of the EEG. *Clin Neurophysiol.* 1982; 53 (1): 119-124. DOI: 10.1016 / 0013-4694 (82) 90112-2 View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0013469482901122?via%3Dihub> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6173196/>
27. Braver TS, Cohen JD, Nystrom LE, Jonides J, Smith EE, Noll DC. A parametric study of prefrontal cortex involvement in human working memory. *Neuroimage.* 1997;5(1):49-62. DOI: 10.1006/nimg.1996.0247 View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1053811996902475> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9038284/>
28. Danckert J, Maruff P, Ymer C, Kinsella G, Yucel M, de Graaff S, Currie J. Goal-directed selective attention and response competition monitoring: evidence from unilateral parietal and anterior cingulate lesions. *Neuropsychology.* 2000 Jan;14(1):16-28. DOI: 10.1037//0894-4105.14.1.16. View at: Publisher site: <https://doi.apa.org/doiLanding?doi=10.1037%2F0894-4105.14.1.16> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10674795/>

Article history
Received: 30.04.2021
Revision requested: 25.05.2021
Revision received: 11.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ УТОМЛЕНИЯ. Обзор

Маракушин Д.И., Чернобай Л.В., Ващук Н.А., Исаева И.Н., Кармазина И.С., Мамон М. А., Головки М.Д.

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина
inisaeva@ukr.net

Актуальность. Утомление, как интеллектуальное, так и физическое, снижает эффективность повседневной деятельности и качество жизни, кроме того, утомление является одним из факторов, способствующих развитию различных патологических состояний, таких как сердечно-сосудистые заболевания и другие. Таким образом, важно выяснить механизмы, лежащие в основе развития утомления, что улучшит профилактику её развития.

Цель: проанализировать физиологические и биохимические механизмы, лежащие в основе развития утомления.

Методы. Анализ научных публикаций международной наукомерической базы данных PubMed по ключевым словам. При написании работы были использованы следующие методы исследования: систематизация материала, анализ и обобщение.

Результаты. Рассматриваются физиологические и биохимические механизмы усталости. Прослеживается корреляция между общим психическим состоянием человека, физиологическими, биохимическими процессами, активностью нейромедиаторов, интеллектуальной и физической деятельности, питанием. Выделяют центральные и периферические механизмы развития утомления. В центральном звене выделяют спинномозговое и супраспинальное утомление, которое также вовлекает нервно-мышечный синапс. Периферическое утомление возникает на уровне мышц и преимущественно включает биоэнергетику мышц или сопряжение возбуждения и сокращения.

Современные исследования характеризуют утомление как общую реакцию на стресс, которая длится в течение определенного периода, учитывая кумулятивные эффекты, в течение дней, недель или месяцев, также очень важны для развития утомления последствия нарушения привычек сна, потому что эффекты утомления тесно связаны с последствиями недосыпа. Поэтому необходимое для восстановления время зависит от степени выраженности утомления. В настоящее время существует много методов исследования, таких как электромиография, транскраниальная магнитная стимуляция, магнитно-резонансная томография, спектроскопия и другие, которые дают возможность лучшего понимания физиологических процессов утомления.

В свою очередь, психологические, поведенческие или физические триггеры могут иметь благоприятный эффект против развития острого утомления и улучшать работоспособность, также дают возможность лучшего понимания функции нейромедиаторов, физиологических и биохимических процессов, важных в развитии утомления организма в целом.

Ключевые слова: центральное и периферическое утомление, нейромедиаторы, интеллектуальная работоспособность, физическая работоспособность, механизмы развития утомления.

PHYSIOLOGICAL MECHANISM OF FATIGUE. Review

Marakusyn D.I., Chernobay L.V., Vaschuk M.A., Isaieva Inna M., Karmazina I.S., Mamon M.O., Holovko M.D.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

inisaeva@ukr.net

Relevance. Fatigue, both intellectual and physical, reduces the efficiency of daily activities and quality of life, in addition, fatigue is one of the factors contributing to the development of various pathological conditions, such as cardiovascular disease and others. Therefore, it is important to understand the mechanisms underlying the development of fatigue, which will improve prevention and development.

Objective: to analyze the physiological and biochemical mechanisms underlying the development of fatigue.

Methods. Analysis of scientific publications of the international scientific database PubMed by keywords. The following research methods were used in writing the paper: systematization of material, analysis and generalization.

Results. In this article we discussed the physiological and biochemical mechanisms of fatigue. The correlation between fatigue and the general mental condition, physiological, biochemical processes, activity of neurotransmitters, intellectual and physical activity, food has been defined. The central and peripheral mechanisms of fatigue were considered. Central fatigue is divided into spinal and supraspinal and involves the neuromuscular junction. Peripheral fatigue occurs at the level of the muscles and mainly involves muscle bioenergetics or an excitation-contraction coupling.

Currently fatigue is considered as a general reaction to stress that lasts for a period of time, taken in an account the cumulative effects of days, weeks or months, and the effects of sleep disorders are also very important, because the effects of fatigue are closely linked to sleep deprivation. Therefore, the time required for recovery depends on the severity of fatigue. There are currently many research methods, such as electromyography, transcranial magnetic stimulation, magnetic resonance imaging, and spectroscopy, which are useful in understanding the physiological correlates of fatigue.

In turn, psychological, behavioral or physical triggers can have a beneficial effect against the development of acute fatigue and improve performance, as well as provide a better understanding of the function of neurotransmitters, physiological and biochemical processes important in the development of body fatigue in general.

Keywords: central and peripheral fatigue, neurotransmitters, intellectual performance, physical performance, mechanisms of fatigue development.