ISSN 3083-5615 (Online)
УДК 577.27+616

KARAZIN UNIVERSITY
CLASSICS AHEAD OF TIME

КАРАЗІНСЬКИЙ ІМУНОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ

No. 2(14)
Том 7 (2024)
Volume 7 (2024)

KARAZIN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

КАРАЗІНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КЛАСИКА, ЩО ВИПЕРЕДЖАЄ ЧАС

ТОМ VII
2(14) | 2024

ISSN 3083-5615 (Online)

УДК 577.27+616

Унікальний префікс DOI видавництва журналу: 10.26565

Затверджено розміщення в мережі Інтернет рішенням Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (протокол №24 від 25.11.2024 р.)

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції ДК № 3367 від 13.01.2009 р.

Адреса редакції:
майдан Свободи, буд. 4,
м. Харків, 61022, Україна
тел./факс: +38 (057) 702-04-55
e-mail:
apmm.meddep@karazin.ua

Науково-практичне видання

КАРАЗІНСЬКИЙ ІМУНОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ

https://ukrmedsci.com/index.php/immun

Засновник і видавець: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України
Засновано 2017 року
Періодичність виходу – 2 рази на рік

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Приймаються статті
в галузі знань «22 – Охорона здоров'я»
за спеціальностями: «222 – Медицина»,
«224 – Технології медичної діагностики та лікування»,
«228 – Педіатрія», «229 – Громадське здоров'я»

Робота редакційної колегії орієнтована на норми та принципи International Committee of Medical Journal Editors

Контент доступний за ліцензією Creative Commons «Attribution» 4.0

Research and practice edition

KARAZIN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

https://ukrmedsci.com/index.php/immun

Founder and publisher: V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine
Established in 2017
Published 2 times a year

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE

Publishing which can theses results
in «22 – Healthcare»
field on the specialties: «222 – Medicine»,
«224 – Technologies of medical diagnosis and treatment»,
«228 – Pediatrics», «229 – Public health»

With a focus of the editorial board on the standards and guidelines of International Committee of Medical Journal Editors

The content is available under license from Creative Commons "Attribution" 4.0

KARAZIN UNIVERSITY
CLASSICS AHEAD OF TIME

VOLUME VII
1(13) | 2024

ISSN 3083-5615 (Online)

UDC 577.27+616

DOI unique prefix of the Journal publishing house:
10.26565

Approved
for distribution in the Internet
by the decision
of the Academic Council
of V. N. Karazin
Kharkiv National University
of the Ministry
of Education and Science
of Ukraine
(record No 24 of 25/11/2024)

Certificate of registration
of publishing industry entity
in the State Register
of Publishers, Manufacturers
and Distributors
of Printed Products
ДК № 3367, 13/01/2009

Editorial office address:
4 Svobody Sq.,
Kharkiv, 61022, Ukraine
ph/fax: +38 (057) 702-04-55
e-mail:
apmm.meddep@karazin.ua

ISSN 3083-5615 (Online)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
EDITORIAL BOARD

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

Попов Микола Миколайович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА

Цівенко Олексій Іванович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри хірургічних хвороб медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

ВИКОНАВЧИЙ РЕДАКТОР

Матвєєнко Марія Сергіївна – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина» (кандидат медичних наук), доцент, завідувачка кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

НАУКОВІ РЕДАКТОРИ

Лядова Тетяна Іванівна – доктор медичних наук, професор, декан медичного факультету, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Шевченко Наталя Станіславівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри педіатрії медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Чернуський В'ячеслав Григорович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

CHIEF EDITOR

Popov Mykola Mykolayovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases Clinical Immunology of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

DEPUTY EDITOR

Tsivenko Oleksii Ivanovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Surgical Diseases of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

EXECUTIVE EDITOR

Matvieienko Mariia Serhiivna – Doctor of Philosophy (PhD) in Health Care in specialty «Medicine», Associate Professor, Head of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

SCIENCE EDITORS

Liadova Tetiana Ivanivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Dean of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Shevchenko Natalia Stanislavivna – Doctor of Medical, Professor, Head of the Department of Pediatrics of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Chernusky Viacheslav Hryhorovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

ISSN 3083-5615 (Online)

Бабаджан Володимир Данилович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини №2, клінічної імунології та алергології Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (м. Харків, Україна)

Белозьоров Ігор Вікторович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри онкології, радіології та радіаційної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина» (кандидат медичних наук), старший науковий співробітник групи променевої патології і паліативної медицини Відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» (м. Харків, Україна)

Даниленко Георгій Миколайович – доктор медичних наук, професор, директор Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» (м. Харків, Україна)

Колесніченко Віра Анатоліївна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри хірургічних хвороб медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Кот Юрій Григорович – кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри біохімії біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Курченко Андрій Ігорович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця Міністерства охорони здоров'я України (м. Київ, Україна)

Мартиненко Олександр Віталійович – доктор фізико-математичних наук, професор, професор кафедри гігієни та соціальної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Джафферані Мохаммад – доктор медичних наук, професор Центрального Мічиганського університету (Мічиган, Сполучені Штати Америки)

Нартов Павло Вікторович – доктор медичних наук, професор, директор Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна клінічна інфекційна лікарня» Міністерства охорони здоров'я України (м. Харків, Україна)

Babadzhan Volodymyr Danylovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Internal Medicine No. 2, Clinical Immunology and Allergology Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Belozorov Igor Viktorovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Oncology, Radiology and Radiation Medicine of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy (PhD) in Health Care in specialty «Medicine», Senior Researcher of the Group of Radiation pathology and palliative medicine at the Radiology Department of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine)

Danylenko Heorhii Mykolaiovych – Doctor of Medicine, Full Professor, director of the State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine)

Kolesnichenko Vira Anatoliivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Surgery disease of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Kot Yurii Hryhorovych – Doctor of Philosophy, Associate Professor of the Department of Biochemistry of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Kurchenko Andrii Ihorovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of Department of Clinical Immunology and Allergology with Medical Genetics Section of National Medical University named after O.O. Bogomolets of the Ministry of Health of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

Martynenko Oleksandr Vitaliiovych – Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Full Professor, Professor of the Department of Hygiene and Social Medicine of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Jafferany Mohammad – Doctor of Medicine, Professor of the Department of Psychiatry and Behavioral Sciences of Central Michigan University College of Medicine (Michigan, United States of America)

Nartov Pavlo Viktorovych – Doctor of Medicine, Full Professor, director of Communal non-profit enterprise Kharkiv Regional Clinical Infectious Diseases Hospital of the Ministry of Health of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

ISSN 3083-5615 (Online)

Ксав'єр Пастор Дюран – доктор медичних наук, професор, професор кафедри хірургії та хірургічної спеціалізації Університету Барселони (м. Барселона, Іспанія)

Проценко Олена Сергіївна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Раймонді Джанфранко – доктор медичних наук, професор, Римський університет Ла Сапієнца (м. Рим, Італія)

Ржепішевська Олена – доктор медичних наук, професор, науковий співробітник кафедри хімії, співробітник кафедри клінічної мікробіології Університету Умео, (м. Умео, Швеція)

Сотнікова-Мелешкіна Жанна Владиславівна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри гігієни та соціальної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Тихонова Тетяна Михайлівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри внутрішньої медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Чопяк Валентина Володимирівна – член-кореспондент Національної академії наук України, доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького Міністерства охорони здоров'я України (м. Львів, Україна)

Федотова Інга Фридонівна – доктор медичних наук, професор Державної установи «Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України» (м. Харків, Україна), кафедра загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Шалімова Анна Сергіївна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри гіпертонії та діабетології Медичного університету Гданська (м. Гданськ, Польща)

Шерстюк Сергій Олексійович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри нормальної анатомії та фізіології людини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Xavier Pastor Duran – Doctor of Medicine, Full Professor, Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-quirúrgicas Informàtica Mèdica. Hospital Clínic de Barcelona (Barcelona, Spain)

Protsenko Olena Serhiivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of General and Clinical Pathology of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Raimondi Gianfranco – Doctor of Medicine, Full Professor, Sapienza University of Rome (Rome, Italy)

Rzhepishevska Olena – Doctor of Medicine, Professor, staff scientist at the Department of Chemistry, affiliated research fellow at the Department of Clinical Microbiology, Umeå University, Sweden, (Umea, Sweden)

Sotnikova-Meleshkina Zhanna Vladyslavivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Hygiene and Social Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Tykhonova Tetiana Mykhailivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of Internal Medicine of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Chopyak Valentyna Volodymyrivna – Corresponding Member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology of Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (Lviv, Ukraine)

Fedotova Inga Frydonivna – Doctor of Medicine, Full Professor, State Institute «Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine), Department of the General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Shalimova Anna Serhiivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Hypertension and Diabetology of Medical University of Gdansk (Gdansk, Poland)

Sherstyuk Serhii Oleksiiovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of Human Anatomy and Physiology of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

 ISSN 3083-5615 (Online)

Фролов Олександр Кирилович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри фізіології, імунології та біохімії з курсом цивільної оборони та медицини Запорізького національного університету Міністерства освіти і науки України (м. Запоріжжя, Україна)

Frolov Oleksandr Kyrylovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Physiology, Immunology and Biochemistry with the course of Civil Defence of Zaporizhzhia National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Zaporizhzhia, Ukraine)

Чиж Микола Олексійович – кандидат медичних наук, старший дослідник, завідувач відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (м. Харків, Україна)

Chyzh Mykola Oleksiyovych – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Head of the Department of Experimental Cryomedicine Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

РЕДАКЦІЙНА РАДА
EDITORIAL COUNCIL

Яблучанський Андрій Миколайович – кандидат медичних наук, доцент, Науковий центр охорони здоров'я Університету Оклахоми (м. Норман, Оклахома, Сполучені Штати Америки)

Yabluchanskiy Andriy Mykolaiovych – Doctor of Philosophy, Associate Professor, University of Oklahoma Health Science Center (Norman, Oklahoma, United States of America)

Константиновська Ольга Сергіївна – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Konstantynovska Olha Serhiivna – Doctor of Philosophy, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Целуйко Віра Йосипівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри кардіології, лабораторної та функціональної діагностики Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Tseluyko Vira Yosypivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of Department of Cardiology, Laboratory and Functional Diagnostics of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

Потейко Петро Іванович – кандидат медичних наук, доцент, завідувач кафедри внутрішніх хвороб і сімейної медицини Навчально-наукового медичного інституту Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Poteiko Petro Ivanovych – Doctor of Medicine, Associate Professor, Head of the Department of Internal Medicine and Family Medicine, Educational and Research Medical Institute of the National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute» of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

ISSN 3083-5615 (Online)

ЗМІСТ

CONTENTS

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Голуб О.І., Волобуєва О.В., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Солдатенко І.В.
Патогенетичний вплив медіаторів запалення на розвиток вторинного остеоартриту залежно від стадії дегенерації суглобового хряща — 111

Отченаш Н.М., Потьомкін М.Ю.
Дослідження стану клітинного та гуморального імунітету у хворих на рак грудної залози при проведенні неоад'ювантної хіміотерапії — 122

Голуб О.І., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Павлікова К.В.
Роль перекисного окиснення ліпідів в патогенезі хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща — 133

Голуб О.І., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Павлікова К.В., Воронкіна І.А., Волобуєв Д.В.
Дисбаланс маркерів клітинного імунітету як один з факторів апоптозу хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії обсягу дегенерації суглобового хряща — 149

Зац О.С., Шерстюк С.О., Панов С.І.
Експресія інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках та плаценті на тлі материнської патології — 159

Цівенко О.І., Козаченко А.В., Шморгун В.В.
Особливості імунних реакцій в тканинах шлунково-кишкового тракту та їх вплив на перебіг репаративних процесів залежно від застосованих видів фізичної дисекції — 175

Попов М.М., Самусенко Д.С., Огнівенко О.В.
Мікробіоценоз слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа — 183

Муратов Г.Р., Савво О.М., Волобуєва О.В., Ржепішевська О.
Стан місцевого та загального імунітету у дітей, які часто хворіють із синдромом лімфаденопатії — 192

ORIGINAL RESEARCH

Golub O.I., Volobuieva O.V., Chernusky V.H., Letiaho H.V., Soldatenko I.V.
The pathogenetic influence of inflammatory mediators on the development of secondary osteoarthritis depending on the stage of articular cartilage degeneration — 111

Otchenash N.M., Potomkin M.Yu.
Study of the state of cellular and humoral immunity in breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy — 122

Golub O.I., Chernusky V.H., Letiaho H.V., Pavlikova K.V.
The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration — 133

Golub O.I., Chernusky V.H., Letiaho H.V., Pavlikova K.V., Voronkina I.A., Volobuiev D.V.
Imbalance of markers of cellular immunity as one of the factors of apoptosis in patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration — 149

Zats O.S., Sherstiuk S.O., Panov S.I.
Expression of interstitial collagens in fetal membranes and placenta against the background of maternal pathology — 159

Tsivenko O.I., Kozachenko A.V., Shmorhun V.V.
Features of immune responses in gastrointestinal tract tissues and their impact on the course of reparative processes depending on the types of physical dissection applied — 175

Popov M.M., Samusenko D.S., Ohnivenko O.V.
Microbiocenosis of the nasal mucosa in patients with generalized furunculosis complicated by nasal furuncle — 183

Muratov G.R., Savvo O.M., Volobuieva O.V., Rzhepishevska O.
Local and general immunity in children who often present with lymphadenopathy syndrome associated with respiratory infections — 192

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

LITERATURE REVIEW

Лядова Т.І., Гладких Ф.В.
Імунологічні механізми розвитку аутоімунного гастриту як передракового захворювання шлунка — 202

Liadova T.I., Hladkykh F.V.
Immunological mechanisms of the development of autoimmune gastritis as a precancerous disease of the stomach — 202

ВИПАДОК ІЗ ПРАКТИКИ

A CASE FROM PRACTICE

Лук'яненко Т.В., Посохова А.І., Біляєва В.С., Кордюмова А.К., Воронкова О.А.
Клінічний випадок IgG4-асоційованого захворювання із поліорганним ураженням — 212

Lukianenko T.V., Posokhova A.I., Biliaieva V.S., Kordiumova A.K., Voronkova O.A.
Clinical case of IgG4-associated disease with multi-organ involvement — 212

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 111–121
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):111–121 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-01
УДК: 616.72-007.248:616.71-018.3-003.8-036]-002

CC BY
OPEN ACCESS

Патогенетичний вплив медіаторів запалення на розвиток вторинного остеоартриту залежно від стадії дегенерації суглобового хряща

Голуб О.І.[1], https://orcid.org/0009-0000-6239-7902, e-mail: o.golub.med@gmail.com
Волобуєва О.В.[1], https://orcid.org/0000-0002-5569-1748, e-mail: o.volobyeva@karazin.ua
Чернуський В.Г.[1], https://orcid.org/0000-0001-5657-9486, e-mail: chernusky@karazin.ua
Летяго Г.В.[1], https://orcid.org/0000-0002-6327-1321, e-mail: letyago@karazin.ua
Солдатенко І.В.[2], https://orcid.org/0000-0002-7454-4428, e-mail: soldinna@gmail.com

[1]Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Довірча служба Національної служби охорони здоров'я Льюїшема і Грінвіча, Лондон, Сполучене Королівство Великої Британії

The pathogenetic influence of inflammatory mediators on the development of secondary osteoarthritis depending on the stage of articular cartilage degeneration

Golub O.I.[1], https://orcid.org/0009-0000-6239-7902, e-mail: o.golub.med@gmail.com
Volobuieva O.V.[1], https://orcid.org/0000-0002-5569-1748, e-mail: o.volobyeva@karazin.ua
Chernusky V.H.[1], https://orcid.org/0000-0001-5657-9486, e-mail: chernusky@karazin.ua
Letiaho H.V.[1], https://orcid.org/0000-0002-6327-1321, e-mail: letyago@karazin.ua
Soldatenko I.V.[2], https://orcid.org/0000-0002-7454-4428, e-mail: soldinna@gmail.com

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Lewisham and Greenwich NHS Trust, London, The United Kingdom of Great Britain

Ключові слова:

вторинний остеоартрит, імунодіагностика, перехресно-реагуючі аутоантитіла, біологічно активні речовини.

Для кореспонденції:

Чернуський В'ячеслав Григорович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua

© Голуб О.І., Волобуєва О.В., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Солдатенко І.В., 2024.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Остеоартрит (ОА) є одним з найпоширеніших захворювань опорно-рухового апарату. Згідно із статистичними даними найчастіше при цьому захворюванні уражуються великі суглоби, передусім колінні. На сьогодні існує багато поглядів на механізми розвитку ОА, що протягом вже тривалого часу є предметом дискусій. Вважається, що в основі розвитку ОА лежить хронічне продуктивне запалення з деградацією структур суглобового хряща, протеогліканів, фрагментів, що потрапляють у порожнину суглоба, яке супроводжується їх фагоцитозом лейкоцитами із вивільненням медіаторів запалення, лізосомальних ферментів. У результаті запускається каскад прозапальних цитокінів, що посилюють дегенеративні процеси у суглобовому хрящі. Вивчення цих чинників є актуальним для діагностики стадій дегенерації і розробки патогенетичної терапії ОА.

Мета роботи – вивчити патогенетичний вплив медіаторів запалення на розвиток вторинного остеоартриту залежно від стадії дегенерації суглобового хряща.

Матеріали та методи. Проведено дослідження 117 хворих віком від 19 до 45 років, які перебували на стаціонарному лікуванні у Artz Klinic (м. Харків) з приводу вторинного ОА колінного суглоба. Діагноз встановлювали згідно з Міжнародною класифікацією хвороби 10-го перегляду (МКХ-10) – М18.1. Контрольну групу склали 25 здорових добровольців. Для визначення стадії дегенеративних змін використовували класифікацію Міжнародного товариства з вивчення ОА (OARSI), яка виділяє 4 стадії ураження суглобового хряща від об'єму (%) дегенеративних змін: 1 – < 10%; 2 – 10–25%; 3 – 25–50%; 4 – > 50%. Для ідентифікації стадійності запального процесу визначали рівень медіатора гістаміну у цілісній крові (згідно з прийнятими методиками). Рівень аутоантитіл до гістаміну, гемолізату, гіалуронідазі, фітогемаглютиніну, гіалуронової кислоти, хондроітинсульфату, гепарину визначали шляхом застосування нефелометричної реакції Уан'є з кількісним визначенням антитіл у модифікації Н.М. Клемпарської. Отримані результати статистично оброблялися із визначенням середньостатистичної величини та її похибки. Достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що у хворих з 1-м та 2-м ступенем деградації суглобового хряща, визначалося підвищення гістаміну в цілісній крові та аутоантитіл, що характеризувало ексудативно-альтеративну фазу запалення, а при 3-му та 4-му ступені деградації суглобового хряща ми діагностували зниження гістаміну, що вказувало на перемикання на проліферативну фазу запалення у таких пацієнтів. Показано, що підвищення рівня аутоантитіл до гемолізату, гіалуронідази, гіалуронової кислоти, хондроітинсульфату, гепарину характеризує наростання аутоімунного компонента. Підвищений рівень аутоантитіл до фітогемаглютиніну вказує на переважну реакцію гіперчутливості повільного типу, продукції ефекторними клітинами прозапальних цитокінів у хворих на 3-тю та 4-ту стадію (25–50%) деградації суглобового хряща. Ці дані дають можливість розширити імунодіагностику та розробити патогенетичні підходи до лікування даного контингенту хворих.
Висновки. Для імунодіагностики вторинного ОА у хворих розроблено імунодіагностичний комплекс за рівнем гістаміну та аутоантитіл до нього, що дозволяє діагностувати ексудативно-альтеративну стадію, а за рівнем аутоантитіл до гемолізату, ФГА, гіалуронової кислоти, хондроітинсульфату, гепарину створюється можливість окреслити патогенетичні особливості розвитку продуктивної стадії хронічного запалення та дегенерації суглобового хряща та розробити патогенетичні підходи терапії до вторинного ОА.

Для цитування:

Голуб О.І., Волобуєва О.В., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Солдатенко І.В. Патогенетичний вплив медіаторів запалення на розвиток вторинного остеоартриту залежно від стадії дегенерації суглобового хряща. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 111–121. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-01

Key words:

secondary osteoarthritis, immunodiagnostics, cross-reacting autoantibodies, biologically active substances.

For correspondence:

Chernusky Viacheslav Hryhorovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua

© Colub O.I., Volobueva O.V., Chernusky V.H., Letiaho H.V., Soldatenko I.V., 2024

ABSTRACT

Background. Osteoarthritis (OA) is one of the most common diseases of the musculoskeletal system. According to statistical data, this disease most often affects large joints, especially knee joints. To date, there are many views on the mechanisms of the development of OA, which has been the subject of debate for a long time. It is believed that the development of OA is based on chronic productive inflammation with degradation of articular cartilage structures, proteoglycans, fragments that enter the joint cavity, which is accompanied by their phagocytosis by leukocytes with the release of inflammatory mediators and lysosomal enzymes. As a result, a cascade of pro-inflammatory cytokines is triggered, intensifying degenerative processes in articular cartilage. The study of these factors is relevant for the diagnosis of the stages of degeneration and the development of pathogenetic therapy for OA.
Purpose – is to study the pathogenetic influence of inflammatory mediators in patients on the development of secondary osteoarthritis depending on the stage of articular cartilage degeneration.
Materials and Methods. A study was conducted in 117 patients aged 19 to 45 years who were undergoing inpatient treatment at Artz Klinic in Kharkiv for secondary OA of the knee joint. The diagnosis was established according to the International Classification of Diseases of the 10th revision – M18.1. The control group consisted of 25 healthy volunteers. To determine the stage of degenerative changes, the classification of the International Society for the Study of OA (OARSI) was used, which distinguishes 4 stages of articular cartilage damage from the volume (%) of degenerative changes: 1 – < 10%; 2 – 10–25%; 3 – 25–50%; 4 – > 50%. To identify the stage of the inflammatory process, the level of the histamine mediator in whole blood was determined (according to accepted methods). The level of autoantibodies to histamine, hemolysate, hyaluronidase, phytohemagglutinin, hyaluronic acid, chondroitin sulfate, and heparin was determined by using the Ouanier nephelometric reaction with quantitative determination of antibodies as modified by N.M. Klemparska. The obtained results were statistically processed with the determination of the average statistical value and its error. The reliability of the obtained results was determined according to the Student's criterion.
Results. It was established that in patients with 1st and 2nd degree of articular cartilage degradation, an increase in histamine in whole blood and autoantibodies was determined, which characterized the exudative-alterative phase of inflammation, and in patients with 3rd and 4th degree of articular cartilage degradation, we diagnosed a decrease in histamine, which indicated on the switch to the proliferative phase of inflammation in such patients. It is shown that an increase in the level of autoantibodies to hemolysate, hyaluronidase, hyaluronic acid, chondroitin sulfate, and heparin characterizes the increase of the autoimmune component. The increased level of autoantibodies to phytohemagglutinin indicates a predominant reaction of slow-type hypersensitivity, production of proinflammatory cytokines by effector cells in patients with stage 3 and 4 (25–50%) of articular cartilage degradation. These data

provide an opportunity to expand immunodiagnostics and develop pathogenetic approaches to the treatment of this contingent of patients.
Conclusions. For the immunodiagnosis of secondary OA in patients, an immunodiagnostic complex has been developed based on the level of histamine and autoantibodies to him, which allows diagnosing the alternative-exudative stage, and based on the level of autoantibodies to hemolysate, PHA, hyaluronic acid, chondroitin sulfate, heparin, it is possible to outline the pathogenetic features of the development of the productive stage chronic inflammation and degeneration of articular cartilage and develop pathogenetic approaches to therapy for secondary OA.

For citation:

Golub OI, Volobuieva OV, Chernusky VH, Letiaho HV, Soldatenko IV. The pathogenetic influence of inflammatory mediators on the development of secondary osteoarthritis depending on the stage of articular cartilage degeneration. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):111–121. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-01

ВСТУП

Вторинний остеоартрит (ОА) займає одне з провідних місць у структурі дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів [3, 10, 11, 14]. Рентгенологічні обстеження, а також аутопсія показали, що з 30-річного віку збільшується кількість дистрофічних порушень у суглобах. В етіологічному плані певне значення відіграє патогенна та умовнопатогенна мікрофлора, яка має хімічно однотипну будову з клітинно-тканинними структурами суглобового хряща та синовіальної оболонки та лімфогенно або гематогенно проникає в синовіальну рідину, що призводить до розвитку синовіального запалення і переключення патологічного процесу на аутоімунну основу [2].

Проблема аутоімунного процесу у патогенезі вторинного ОА активно вивчається. Руйнування матриксу суглобового хряща, зокрема колагену та протеогліканів, призводить до утворення фрагментів клітинних мембран, що потрапляють у порожнину суглоба. В результаті відбувається їх фагоцитоз лейкоцитами із вивільненням медіаторів запалення, лізосомальних ферментів [3, 4, 9]. Аутоімунний компонент відіграє ключову роль у розвитку як первинних, так і вторинних запальних процесів у суглобовій порожнині. У процес залучаються імунокомпетентні клітини, що беруть участь у формуванні та прогресуванні запальних та дегенеративно-дистрофічних змін усіх компонентів суглоба [2, 9, 12]. Хронізація запального процесу в суглобі веде до прогресування вже вторинної альтерації гіалінового хряща, в результаті якого фрагменти колагену і протеогліканів потрапляють у синовіальну рідину, посилюють запальну реакцію в суглобі і ведуть до переважання деструктивних процесів у хрящі. Це призводить до фіброзу синовіальної мембрани, порушення вироблення синовіальної рідини її в'язкості, погіршуються реологічні властивості та метаболічні процеси у суглобовому хрящі. Аутоімунний процес у структурах суглобового хряща та синовіальної оболонки замикає дегенерацію суглобового хряща [4, 8].

Останнім часом знову зріс інтерес дослідників до вивчення вмісту медіаторів запалення в крові хворих на вторинний ОА, оскільки вони відображають стан імунореактивності та стадійність патологічного процесу, послідовно поєднуючи прояви ексудативно-альтеративного і мляво поточного хронічного продуктивного запалення, особливістю якого є субклінічний перебіг, що характеризується негативними

INTRODUCTION

Secondary OA occupies one of the leading places in the structure of degenerative-dystrophic joint diseases [3, 10, 11, 14]. X-ray examinations, as well as an autopsy, showed that from the age of 30, the number of dystrophic disorders in the joints increases. From an etiological point of view, pathogenic and opportunistic microflora play a certain role, which has a chemically similar structure to the cell-tissue structures of the articular cartilage and synovial membrane and lymphogenously or hematogenously penetrates into the synovial fluid, which leads to the development of synovial inflammation and the switching of the pathological process to an autoimmune basis [2].

The problem of the autoimmune process in the pathogenesis of secondary OA is actively studied. Destruction of the articular cartilage matrix, in particular collagen and proteoglycans, fragments of cell membranes entering the joint cavity. As a result, they are phagocytized by leukocytes with the release of inflammatory mediators and lysosomal enzymes [3, 4, 9]. The autoimmune component plays a key role in the development of both primary and secondary inflammatory processes in the joint cavity. The process involves immunocompetent cells that participate in the formation and progression of inflammatory and degenerative-dystrophic changes in all components of the joint [2, 9, 12]. The chronicity of the inflammatory process in the joint leads to the progression of already secondary alteration of hyaline cartilage, with the breakdown of which fragments of collagen and proteoglycans enter the synovial fluid, intensify the inflammatory reaction in the joint and lead to the predominance of destructive processes in the cartilage. This leads to fibrosis of the synovial membrane, violation of the production of synovial fluid and its viscosity, the rheological properties and metabolic processes in the articular cartilage deteriorate. The autoimmune process in the structures of articular cartilage and synovial membrane closes the degeneration of articular cartilage [4, 8].

Recently, the interest of researchers in studying the content of inflammatory mediators in the blood of patients with secondary OA has increased again, because they reflect the state of immunoreactivity and the staging of the pathological process, consistently combining the manifestation of exudative-alterative and sluggishly ongoing chronic productive inflammation, the feature of which is the subclinical course, which is characterized by negative changes in local and systemic immunity in

змінами у місцевому та системному імунітеті у даного контингенту хворих. Представляють інтерес медіатори запалення (насамперед гістамін), що регулюються системою аденілатциклази – цАМФ) [1, 2].

Мета роботи – вивчити патогенетичний вплив медіаторів запалення у хворих на розвиток вторинного ОА залежно від стадії дегенерації суглобового хряща.

this contingent of patients. Inflammatory mediators are of interest (primarily histamine, which are regulated by the adenylate clasase system – cAMP). A decrease in the activity of cAMP against the background of a violation of the viscosity of the joint fluid and a violation of the metabolism of the cellular structures of the articular cartilage and synovial membrane leads to a decrease in the cells of cAMP, which leads to an increased release of inflammatory mediators by effector cells that are in the synovial fluid in different periods of the disease and characterize the stages degeneration of articular cartilage [1, 2].

Objective – of the work is to study the pathogenetic influence of inflammatory mediators in patients on the development of secondary OA depending on the stage of articular cartilage degeneration.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нами обстежено 117 хворих віком 19–45 років, які перебували на стаціонарному лікуванні у Artz Klinic (м. Харків) з приводу загострення вторинного ОА колінних суглобів. Провідними клінічними ознаками були артралгії (при ході, спуску зі сходів, підсилювалися ввечері та уночі), хрускотіння у суглобах, згладженість контурів суглобів, зменшення амплітуди рухів. Діагноз встановлювали згідно з Міжнародною класифікацією хвороби 10-го перегляду – М18.1. Контрольну групу склали 25 здорових добровольців.

Пацієнти були поінформовані щодо цілей дослідження та надали свою згоду. Дослідження проведено з урахуванням основних положень і відповідно етичним та морально-правовим вимогам Статусу Української асоціації з біоетики та нормам GCP і GLP, принципам Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини.

Для визначення стадії дегенеративних змін усім пацієнтам проводили рентгенологічне та ультразвукове дослідження уражених суглобів. Для аналізу отриманих ознак використовували класифікацію Міжнародного товариства з вивчення ОА (OARSI), яка виділяє 4 стадії ураження суглобового хряща від об'єму (%) дегенеративних змін: 1 – < 10%; 2 – 10–25%; 3 – 25–50%; 4 – > 50%.

Для ідентифікації стадійності запального процесу встановлювали рівень медіаторів запалення – гістаміну методом радіоімунологічного аналізу.

Досліджували рівень аутоантитіл до гістаміну, гемолізату, гіалуронідази, фітогемаглютиніну (ФГА), хондроїтин сульфату, гепарину із застосуванням нефелометричної реакції Уан'є з кількісним визначенням антитіл у модифікації Н.М. Клемпарської [6, 7]. Як антиген застосовували препарати, які офіційно зареєстровані в Україні: розчин гістаміну дигідрохлориду 0,01%, гіалуронідаза у порошку для розчину для ін'єкцій 64 ОД, хондроїтин сульфат розчин для ін'єкції 100 мг/мл, гепарин 5000 МО/мл, розчин фітогемаглютиніну у дозі 40 мкг/мл, ліофілізований гемолізат людської крові. Для отримання послідовних розведеннь лізату еритроцитів антигену від 1:30 до 1:15360 колориметричним методом венозну кров в обсязі 5 мл центрифугують із подальшим відокремленням плазми та додавання фізіологічного розчину та 2,5 мл антигену (0,1 мл). У випадку, якщо отримана крива має «плато» або «піки» – аутоантитіла вва-

MATERIALS AND METHODS

We examined 117 patients aged 19 to 45 years who were receiving inpatient treatment at Artz Klinic in Kharkiv due to exacerbation of secondary OA of the knee joint, which was manifested by persistent pain syndrome in the affected joints. The leading clinical signs were arthralgias (when walking, going down stairs, increased in the evening and at night), crunching in the joints, smoothing of the contours of the joints, and a decrease in the amplitude of movements. The diagnosis was established according to the International Classification of Diseases of the 10th revision – M18.1. The control group consisted of 25 healthy volunteers.

Patients were informed about the objectives of the study and gave their informed consent. The study was conducted taking into account the main provisions and, accordingly, the ethical and moral and legal requirements of the Status of the Ukrainian Bioethics Association and GCP and GLP norms, the principles of the Helsinki Declaration of Human Rights, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine.

To determine the stage of degenerative changes, all patients underwent X-ray and ultrasound examination of the affected joints. The classification of the International Society for the Study of OA (OARSI) was used to analyze the obtained signs, which distinguishes 4 stages of articular cartilage damage from the volume (%) of degenerative changes: 1– < 10%; 2 – 10–25%; 3 – 25–50%; 4 – > 50%.

To identify the stages of the inflammatory process, the level of inflammatory mediators: histamine was determined by radioimmunological analysis.

The level of autoantibodies to histamine, hemolysate, hyaluronidase, phytohemagglutinin (FHA), chondroitin sulfate, and heparin was studied using the Ouanier nephelometric reaction with quantitative determination of antibodies in the modification of N.M. Klemparska [6, 7]. As an antigen, drugs officially registered in Ukraine were used: 0.01% histamine dihydrochloride solution, hyaluronidase in powder for injection solution 64 units, chondroitin sulfate injection solution 100 mg/ml, heparin 5000 IU/ml, phytohemagglutinin solution at a dose of 40 μg/ml, lyophilized hemolysate of human blood. To obtain serial dilutions of antigen erythrocyte lysate from 1:30 to 1:15360 by the colorimetric method, venous blood in a volume of 5 ml is centrifuged with subsequent separation of plasma and addition of physiological

жалися присутніми. Для кількісного визначення аутоантитіл використовували математичний аналіз отриманих при колориметрії результатів за спеціальною розрахунковою формулою [6].

Сатистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням IBM SPSS Statistics 22 із визначенням абсолютної величини та її похибки (M ± m, абс.од.). Достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Стьюдента.

solution and 2.5 ml of antigen (0.1 ml). If the obtained curve has a «plateau» or «peaks» – autoantibodies were considered to be present. For the quantitative determination of autoantibodies, a mathematical analysis of the results obtained during colorimetry was used according to a special calculation formula [6].

Statistical processing of the obtained results was carried out using IBM SPSS Statistics 22 with the determination of the absolute value and its error (M ± m, absolute unit). The reliability of the obtained results was determined according to the Student's criterion.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

В ході проведеного дослідження встановлено, що перша стадія дегенерації суглобового хряща (до 10%) визначалася у 23 пацієнтів (19,7%), друга стадія (10–25%) виявлялася у 36 хворих (30,7%), третя стадія (25–50%) – у 34 пацієнтів (29,1%), четверта (понад 50%) – у 24 хворих (20,5%).

Рівтут медіатора запалення гістаміну в цільній крові у пацієнтів з вторинним ОА був достовірно підвищеним, порівняно із групою контролю (p < 0,01), незалежно від стадійності патологічного процесу. Аналізуючи рівні гістаміну на різних стадіях дегенеративного процесу, ми визначили певну динаміку зсувів. Так, показано, що найбільш високі значення діагностувалися на першій стадії (p < 0,01), які поступово знижувалися до четвертої стадії (табл. 1).

In the course of the study, it was established that the first stage of articular cartilage degeneration (up to 10%) was determined in 23 patients (19.7%), the second stage (10–25%) was detected in 36 patients (30.7%), the third stage (25–50%) – in 34 patients (29.1%), the fourth (more than 50%) in 24 patients (20.5%).

The levels of inflammatory mediator histamine in whole blood in patients with secondary OA were significantly increased compared to the control group (p < 0.01) regardless of the stage of the pathological process. Analyzing the levels of histamine at different stages of the degenerative process, we determined certain dynamics of shifts. Thus, it is shown that the highest values were diagnosed at the first stage (p < 0.01), which gradually decreased until the fourth stage (Table 1).

Таблиця 1. Рівень гістаміну в цільній крові у хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії об'єму (%) дегенерації суглобового хряща, мкмоль/л
Table 1. The level of histamine in whole blood in patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the volume stage (%) of articular cartilage degeneration, μmol/l

Показник Indicator	Здорові донори Healthy donors	Стадія ураження суглобового хряща залежно від об'єму (%) дегенерації The stage of articular cartilage damage depending on the volume of degeneration (%)			
		Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)
	n=25	n=23	n=36	n=34	n=24
Гістамін / Histamine	0,63±0,02*	3,24±0,03*ᵛ	2,12±0,35*	1,93±0,23*	1,53±0,18*ᵛ

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно із групою контролю (p < 0,05);
v – відмінності достовірні із 1-ю стадією з 4-ю стадією (p < 0,05).

Notes:
* differences are significant compared to healthy volunteers (p < 0.05);
v – differences are significant from stage 1 to stage 4 (p < 0.05).

Виходячи з даних таблиці 1, ми дійшли висновку, що 1-ша–2-га стадії дегенеративно-деструктивного ураження суглобів відповідає ексудативно-альтеративній фазі хронічного запалення. Тоді як рівні гістаміну на 3-й–4-й стадії вказують на перемикання патологічного процесу у проліферативне запалення за участю ефекторних клітин. Відомо, що гістамін не тільки запускає реакції гіперчутливості негайного типу, але й має імунотропну дію, спрямовану на Т-лімфоцити-хелпери, що проявляється в стимулюванні антитілоутворюючих клітин, які у свою чергу гальмують або підсилюють імунну відповідь.

Наступним етапом було кількісне визначення аутоантитіл до гістаміну, гемолізату, ФГА, що реалізують стадії хронічного запального процесу при ОА. Ми враховували, що будь-який стресовий агент, який визначає патогенез захворювання, за умов

Based on the data in Table 1, we came to the conclusion that the 1–2 stages of degenerative-destructive joint damage corresponds to the exudative-alterative phase of chronic inflammation. While the levels of histamine at stage 3–4 indicate the transition of the pathological process to proliferative inflammation with the participation of effector cells. It is known that histamine not only trigger immediate hypersensitivity reactions, but also have an immunotropic effect directed at helper T-lymphocytes, which is manifested in the stimulation of antibody-forming cells, which in turn inhibit or enhance the immune response.

The next stage was the quantitative determination of autoantibodies to histamine, hemolyzate, FGA, which implement the stages of the chronic inflammatory process in OA. We took into account that any stress agent that determines the pathogenesis of the disease,

антигенності, повинен потрапляти під імунологічний контроль організму (табл. 2).

under the conditions of antigenicity, should fall under the immunological control of the body (Table 2).

Таблиця 2. Показники кількісного визначення аутоантитіл до медіаторів запалення (M±m) у хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії обсягу (%) дегенерації суглобового хряща (X±Sx), ум. од.
Table 2. Indicators of quantitative determination of autoantibodies to inflammatory mediators (M±m) in patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of volume (%) of degeneration of articular cartilage (X±Sx), conditional units

Показник Indicator	Здорові донори Healthy donors	Стадія ураження суглобового хряща в залежності від об'єму (%) дегенерації The stage of articular cartilage damage depending on the volume of degeneration (%)			
		Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	Стадія 2/ Stage 2 (10–25%)	Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	Стадія 1 / Stage 1 (> 50%)
	n=25	n=23	n=36	n=34	n=24
Гістамін / Histamine	0,07±0,02	0,34±0,03*^	0,39±0,03*^	0,21±0,02*	0,16±0,01*^
Гемолізат Hemolysate	0,04±0,01	0,14±0,02*D	0,18±0,03*	0,28±0,04*D	0,36±0,04*D
ФГА / FGA	0,04±0,01	0,13±0,01*D	0,19±0,03*	0,28±0,03*D	0,36±0,04*D

Примітки:
* – p < 0,05 – відмінності між усіма стадіями суглобової дегенерації із групою контролю;
^ – p < 0,05 – відмінності між 1-ю, 2-ю стадіями суглобової дегенерації з 4-ю стадією;
D – p < 0,05 – відмінності між 3-ю, 4-ю стадіями суглобової дегенерації з 1-ю стадією.
Notes:
* – p < 0.05 – differences between all stages of joint degeneration with the control group;
^ – p < 0.05 – differences between stages 1 and 2 of joint degeneration with stage 4;
D – p < 0.05 – differences between 3, 4 stages of joint degeneration with 1 stage.

Показано, що рівні аутоантитіл до гістаміну прогресивно знижувались з першої стадії дегенеративного процесу до четвертої, але все одно значно перевищували показники групи контролю (p < 0,05). З отриманих результатів видно, що 1-ша–2-га стадія ураження суглобового хряща відповідає ексудативно-альтеративній, а 3-тя – 4-та стадія – проліферативній фазі хронічного запалення. На це вказує різке зниження більш ніж удвічі визначених показників у хворих на третій стадії (p < 0,05) порівняно із першою та другою. Зниження показника рівня аутоантитіл до гістаміну у хворих з 3-ю і 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща вказує на зменшення його ролі в патогенезі та переключенні патологічного процесу на проліферативну стадію, яка реалізується через переважання реакцій гіперчутливості повільненого типу та аутоімунний компонент, що посилює дегенеративні процеси в суглобовому хрящі у даного контингенту хворих.

Динаміка зміни рівнів гістаміну та аутоантитіл до нього відображають стадійність розвитку хронічного млявого продуктивного запалення. Гістамін здатний моделювати активність імунокомпетентих клітин, яка залежить від субполяційної структури ефекторних клітин, що визначають патогенез захворювання, і від представництва наявних на їх мембрані рецепторів до гістаміну [1]. Тривалість їх впливу сприяє переключенню ексудативно-альтеративної стадії на проліферативну, активуючи ефекторні клітини в суглобовій рідині із продукцією прозапальних цитокінів, активації аутоімунного компонента в клітинно-тканинних структурах суглобового хряща та синовіальної оболонки.

При цьому привертає увагу паралельне наростання аутоімунного компонента на третій та четвертій стадії дегенеративного процесу, на що вказує зростання значень аутоантитіл до гемолізату як універсального показника, що характеризує наяв-

It was shown that the levels of autoantibodies to histamine progressively decreased from the first stage of the degenerative process to the fourth, but still significantly exceeded the indicators of the control group (p < 0.05). From the obtained results, it can be seen that stage 1–2 of damage to articular cartilage corresponds to the exudative-alterative stage, and stage 3–4 to the proliferative phase of chronic inflammation. This is indicated by a sharp decrease of more than 2 times the determined indicators in patients at the third stage (p < 0.05) compared to the first and second. A decrease in the level of autoantibodies to these mediators in patients with stage 3 and 4 degeneration of articular cartilage indicates a reduction in their role in the pathogenesis and a switch of the pathological process to a proliferative stage, which is realized due to the predominance of delayed-type hypersensitivity reactions and an autoimmune component that enhances degenerative processes in the articular cartilage. cartilage of the successful contingent of patients.

The dynamics of changes in the levels of histamine and autoantibodies to them are shown to reflect the stages of development of chronic indolent productive inflammation. Histamine is able to modulate the activity of immunocompetent cells, which depends on the subpopulation structure of effector cells, which determine the pathogenesis of the disease, and on the representation of histamine receptors present on their membrane [1]. The duration of their influence contributes to the switching of the exudative-alterative stage to the proliferative one by activating effector cells in the joint fluid with the production of pro-inflammatory cytokines, activation of the autoimmune component in the cell-tissue structures of the joint cartilage and synovial membrane.

At the same time, attention is drawn to the parallel increase of the autoimmune component in the third and fourth stages of the degenerative process, which

ність аутоімунного процесу в організмі. Відмічено достовірне (p < 0,05) підвищення рівня аутоантитіл до гемолізату у хворих на 3-ю та 4-ю стадіями дегенерації суглобового хряща, порівняно із початковими дегенеративно-дистрофічними процесами. Аналогічна картина визначається із динамікою титрів аутоантитіл до ФГА, який є маркером участі у патологічному процесі гіперчутливості повільного типу і неспецифічним стимулятором Т-лімфоцитів. Показано, що найменший титр аутоантитіл до ФГА визначається в групі хворих з 1-ю та 2-ю стадією, а найбільш високі значення цього показника діагностуються на третій-четвертій стадії дегенеративного процесу у суглобовому хрящі (p < 0,05).

Водночас відбувається підвищення антитіл до гіалуронової кислоти, яка є представником кислих мукополісахаридів. Показано, що рівень аутоантитіл до гіалуронової кислоти достовірно підвищений (p < 0,05) у хворих з 3-ю і 4-ю стадією деградації суглобового хряща (> 50%), порівняно з хворими із 1-ю і 2-ю стадією (10–25%), що може вказувати на порушення в'язкості суглобової рідини (табл. 3). Це припущення пов'язано із тим, що кислі мукополісахариди клітинно-тканинних структур суглобового хряща та синовіальної оболонки сильно гідратовані. Вони являють собою желеподібні, липкі або слизькі речовини, що служать своєрідним міжклітинним «мастилом» і одночасно лабільним цементуючим матеріалом суглобового хряща та синовіальної оболонки [4].

is indicated by the increase in the values of autoantibodies to hemolysate as a universal indicator characterizing the presence of an autoimmune process in the body. A significant (p < 0.05) increase in the level of autoantibodies to hemolysate was noted in patients at the 3rd and 4th stages of articular cartilage degeneration compared to the initial degenerative-dystrophic processes. A similar picture is determined with the dynamics of titers of autoantibodies to FHA, which is a marker of participation in the pathological process of slow-type hypersensitivity and a non-specific stimulator of T-lymphocytes. It is shown that the lowest titer of autoantibodies to FHA is determined in the group of patients with stage 1 and 2, and the highest values of this indicator are diagnosed at the third-fourth stage of the degenerative process in articular cartilage (p<0.05).

At the same time, there is an increase in antibodies to hyaluronic acid, which is a representative of acidic mucopolysaccharides. It is shown that the level of autoantibodies to hyaluronic acid is significantly increased (p < 0.05) in patients with stage 3 and 4 of articular cartilage degradation (> 50%) compared to patients with stage 1 and 2 (10–25%), which may indicate violation of the viscosity of the joint fluid (Table 3). This assumption is due to the fact that the acidic mucopolysaccharides of the cell-tissue structures of articular cartilage and the synovial membrane are highly hydrated. They are jelly-like, sticky or slippery substances that serve as a kind of intercellular «lubricant» and at the same time a labile cementing material of articular cartilage and synovial membrane [4].

Таблиця 3. Показники кількісного визначення аутоантитіл до кислих мукополісахаридів у хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії обсягу дегенерації суглобового хряща (X±Sx), ум. од.
Table 3. Indicators of quantitative determination of autoantibodies to acidic mucopolysaccharides in patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration (X±Sx), conditional units

Показник Indicator	Здорові донори Healthy donors	Стадія ураження суглобового хряща в залежності від об'єму (%) дегенерації The stage of articular cartilage damage depending on the volume of degeneration (%)			
		Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)
	n=25	n=23	n=36	n=34	n=24
Гіалуронова кислота Hyaluronic acid	0,03±0,01	0,14±0,02*D	0,17±0,02*	0,27±0,03*D	0,32±0,04*D
Гіалуронідаза Hyaluronidase	0,03±0,01	0,13±0,02*D	0,17±0,03*	0,26±0,04*D	0,34±0,05*D
Хондроїтин Chondroitin	0,04±0,01	0,13±0,02*D	0,17±0,02*	0,26±0,03*D	0,35±0,04*D
Гепарин / Heparin	0,04±0,01	0,12±0,03*D	0,17±0,03*	0,25±0,04*D	0,33±0,03*D

Примітки:
* p < 0,05 – відмінності між усіма стадіями суглобової дегенерації із групою контролю;
^ – p < 0,05 – відмінності між 1-ю, 2-ю стадіями суглобової дегенерації з 4-ю стадією;
D – p < 0,05 – відмінності між 3-ю, 4-ю стадіями суглобової дегенерації з 1-ю стадією.
Notes:
* p<0.05 – differences between all stages of joint degeneration with the control group;
^ – p < 0.05 – differences between stages 1 and 2 of joint degeneration with stage 4;
D – p < 0.05 – differences between 3, 4 stages of joint degeneration with 1 stage.

Одиницею будови гіалуронової кислоти, що повторюється, служить дисахарид, який складається із залишків D-глюкуронової кислоти і N-ацетил-D-глюкозамін [5], з'єднаних β (1→3) – зв'язком (рис. 1).

The repeating structural unit of hyaluronic acid is a disaccharide consisting of residues of D-glucuronic acid and N-acetyl-D-glucosamine [5] connected by a β (1→3) bond (Fig. 1).

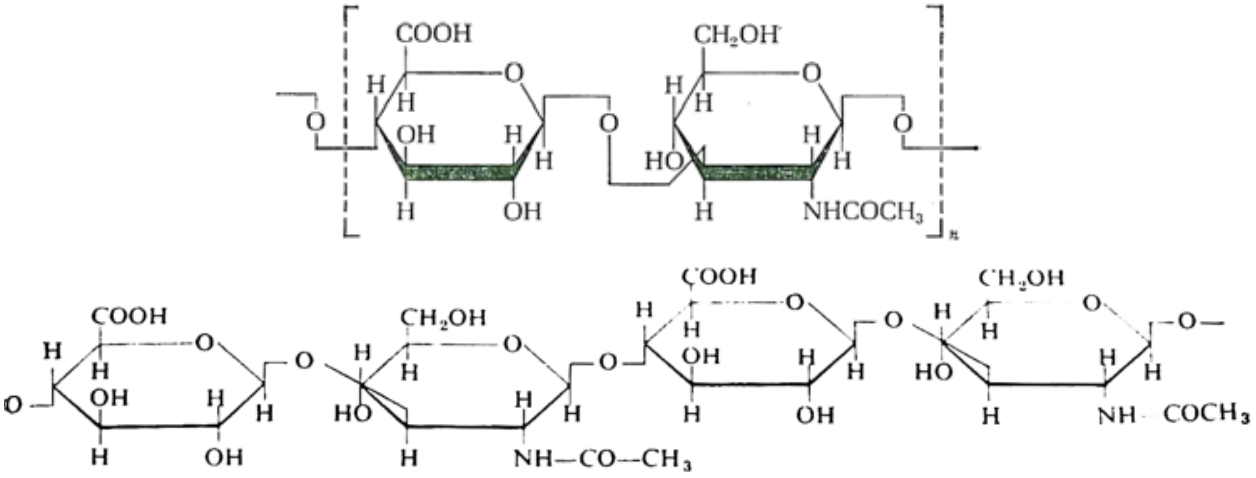

Рис. 1. Повторювальна одиниця гіалуронової кислоти та її повна хімічна структура
Fig. 1. Hyaluronic acid repeating unit and its complete chemical structure

Оскільки гіалуронова кислота є лінійним полімером, то її карбоксильні групи повністю іонізовані і, отже, pH-7,0 несуть негативний заряд. Тому вона розчинна як у воді, так і в суглобовій рідині, в якій вона утворює дуже в'язке середовище, що може призводити до порушення метаболічних і трофічних процесів у суглобовому хрящі та синовіальній оболонці [4, 5]. Фермент гіалуронідаза каталізує гідроліз β (1→3) зв'язків гіалуронової кислоти, що супроводжується зниженням в'язкості в синовіальній рідині, завдяки чому контролюється репаративна активність сполучнотканинних структур суглобового хряща та синовіальної оболонки. Показано, що наростання рівня аутоантитіл до гіалуронідази має достовірні ($p < 0,05$) відмінності у хворих на 3-тю – 4-ту стадію дегенерації суглобового хряща від групи хворих, у яких ОА знаходиться на першій стадії деструктивного процесу.

Інший мукополісахарид, що знаходиться у складі позаклітинної основної речовини і клітинних оболонок суглобового хряща, це хондроїтин, який за своєю структурою майже ідентичний гіалуроновій кислоті, єдина його відмінність полягає в тому, що замість залишків N-ацетил-D-глюкозаміну, він містить залишки D-галактозаміну. Хондроїтин є мінорним компонентом позаклітинного матеріалу, а його сірчанокислі ефіри – хондроїтинсульфат А та хондроїтинсульфат С є основними структурами суглобового хряща та кісткової тканини (рис. 2).

Since hyaluronic acid is a linear polymer, its carboxyl groups are completely ionized and, therefore, pH-7.0 carry a negative charge. Therefore, it is soluble both in water and in joint fluid, in which it forms a very viscous environment, which can lead to disruption of metabolic and trophic processes in joint cartilage and synovial membrane [4, 5]. The enzyme hyaluronidase catalyzes the hydrolysis of β (1→3) bonds of hyaluronic acid, which is accompanied by a decrease in viscosity in the synovial fluid, thanks to which the reparative activity of the connective tissue structures of the articular cartilage and synovial membrane is controlled. It is shown that the increase in the level of autoantibodies to hyaluronidase has significant ($p < 0.05$) differences in patients with stage 3–4 degeneration of articular cartilage from the group of patients in whom OA is at the first stage of the destructive process.

Another mucopolysaccharide found in the extracellular matrix and cell membranes of articular cartilage is chondroitin, which is almost identical in structure to hyaluronic acid, the only difference being that instead of N-acetyl-D-glucosamine residues, it contains D residues – galactosamine. Chondroitin is a minor component of extracellular material, and its sulfuric acid esters – chondroitin sulfate A and chondroitin sulfate C are the main structures of articular cartilage and bone tissue (Fig. 2).

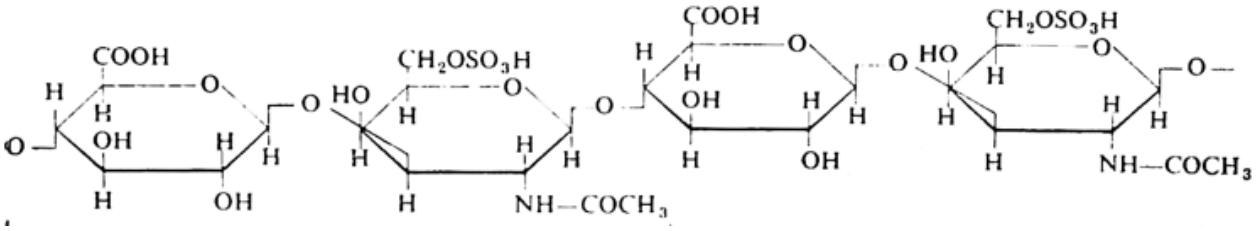

Рис. 2. Хімічна будова хондроїтин-6-сульфат
Fig. 2. Chemical structure of chondroitin-6-sulfate

Також, у позаклітинному середовищі суглобового хряща та синовіальної оболонки міститься ще один кислий мукополісахарид, близький за будовою з гіалуроновою кислотою та хондроїтин-6-сульфатом – це гепарин [5] (рис. 3).

Also, the extracellular environment of the articular cartilage and synovial membrane contains another acidic mucopolysaccharide similar in structure to hyaluronic acid and chondroitin-6-sulfate – this is heparin [5] (Fig. 3).

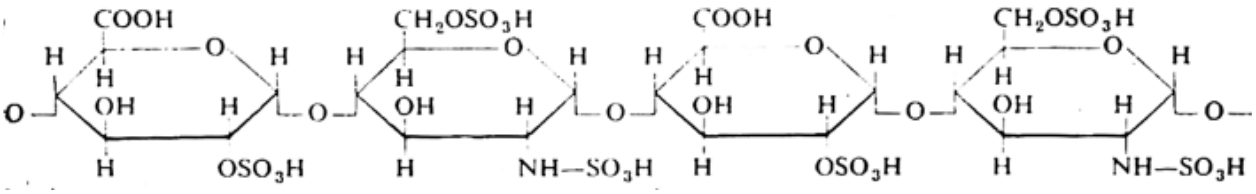

Рис. 3. Хімічна будова гепарину
Fig. 3. Chemical structure of heparin

Близька будова гепарину та хондроїтину за нашою думкою створює можливість перехресного реагування на однотипність хімічної структури, на що вказує достовірне ($p < 0,05$) наростання рівня аутоантитіл як до хондроїтину, так і до гепарину у хворих з 3-ю та 4-ю стадіями (25–50%) дегенерації суглобового хряща порівняно з хворими на 1-шу стадію (< 10%) деградації суглобового хряща, що призводить до порушення реологічних властивостей крові та мікроциркуляції в системі: суглобовий хрящ → синовіальна оболонка → синовіальна рідина, посилюючи дегенеративні зміни та трофічну функцію цих клітинно-тканинних структур.

З приведених досліджень видно, що під впливом пошкоджувальних екзо-ендогенних та імунопатологічних факторів на одну із структур кислих мукополісахаридів йде перехресно реагуюча відповідь імунної системи організму, посилюючи аутоімунний компонент та прогресування дегенеративно-деструктивних процесів у суглобовому хрящі та синовіальній оболонці у даного контингенту хворих.

The close structure creates the possibility of cross-reactivity to the homogeneity of the chemical structure, as indicated by a significant ($p < 0.05$) increase in the level of autoantibodies to both chondroitin and heparin in patients with stage 3 and 4 (25–50%) of articular cartilage degeneration compared to patients with stage 1 (< 10%) degradation of articular cartilage, which leads to a violation of the rheological properties of blood and microcirculation in the system: articular cartilage → synovial membrane → synovial fluid, increasing degenerative changes and trophic function of these cell-tissue structures.

From the above studies, it is clear that under the influence of harmful exogenous and immunopathological factors, a cross-reactive response of the body's immune system to one of the structures of acidic mucopolysaccharides occurs, increasing the autoimmune component and the progression of degenerative-destructive processes in the articular cartilage and synovial membrane in this contingent of patients.

ВИСНОВКИ

Таким чином, проведене дослідження показало, що у крові хворих на вторинний остеоартрит 1-ї і 2-ї стадії (10–25%) дегенерації суглобового хряща відзначається підвищення рівня гістаміну та аутоантитіл до нього та низькій рівень аутоантитіл до ФГА, що дозволяє діагностувати ексудативно-альтеративну стадію хронічного продуктивного запалення.

Зниження рівня гістаміну та аутоантитіл до нього та високі рівні аутоантитіл до ФГА у крові хворих з 3-ю та 4-ю стадією (25–50%) дегенерації суглобового хряща, вказує на перемикання ефекторних клітин на продуктивну стадію хронічного запалення, реалізованого через реакції ГПТ та аутоімунний компонент.

Ми пропонуємо до імунодіагностичного комплексу дослідження хворих на остеоартрит включити визначення аутоантитіл до гемолізату, фітогемаглютиніну, гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфату, гіалуронідази, гепарину. Це дозволить з високою діагностичною точністю виявляти патогенетичні особливості розвитку хронічного млявого продуктивного запалення у хворих із 3-ю і 4-ю стадіями (25–50%) дегенерації суглобового хряща та розробити патогенетичні підходи до терапії вторинного остеоартриту.

CONCLUSIONS

Thus, the conducted research showed that In the blood of patients with secondary osteoarthritis of the 1st and 2nd stages (10–25%) of articular cartilage degeneration, there is an increase in the level of histamine and autoantibodies to it and a low level of autoantibodies to PHA, which allows diagnosing the exudative-alterative stage of chronic productive inflammation.

A decrease in the level of histamine and autoantibodies to it and high levels of autoantibodies to FHA in the blood of patients with stage 3 and 4 (25–50%) of articular cartilage degeneration indicates the switch of effector cells to the productive stage of chronic inflammation realized through HPT reactions and an autoimmune component.

We suggest that the determination of autoantibodies to hemolysate, phytohemagglutinin, hyaluronic acid, chondroitin sulfate, hyaluronidase, and heparin should be included in the immuno-diagnostic research complex of osteoarthritis patients. This will allow with high diagnostic accuracy to identify the pathogenetic features of the development of chronic indolent productive inflammation in patients with 3 and 4 stages (25–50%) of articular cartilage degeneration and to develop pathogenetic approaches to the therapy of secondary osteoarthritis.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Попов М.М., Солошенко Е.М., Чернуський В.Г. Алергічні хвороби: Керівництво для практичних лікарів. ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2011. 291 с.

REFERENCES

1. Popov MM, Soloshenko EM, Chernusky VG. Allergic diseases: Guide for practicing doctors. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University. 2011:291. (In Ukrainian).

2. Голуб О.І., Лядова Т.І., Волобуєва О.В., Чернуський В.Г., Попов М.М., Летяго Г.В., Павлікова К.В. Роль патогенної та умовнопатогенної мікрофлори, що локалізується в ротоглотці в етіопатогенезі вторинного остеоартрозу. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* 2023. № 12. С. 22–28. DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2023-12-03
3. Короткий О.Г. Біохімічні механізми ремоделювання хрящової тканини при експериментальному остеоартриті: дис. ... док. біол. наук: 03.00.04. Київ, 2021. 310 с.
4. Осадченко С.М. Зміна метаболізму хрящової та кісткової тканини синовіальних суглобів при остеоартрозі. *Клінічна фармація.* 2011. Т. 15, № 3. С. 13–16.
5. Сибіль М.Г. Клінічна біохімія: навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів фізкультурного профілю. Львів: ЛДУФК, 2015. 228 с.
6. Чернушенко Е.Ф. Иммунологические исследования в клинике. Київ: Здоров'я, 1978. 159 с.
7. Широбокова В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищих мед. навч. закладів. Вінниця: Нова Книга, 2021. 920 с.
8. Abramoff B., Franklin E. Caldera. Osteoarthritis: pathology, diagnosis, and treatment options. *Medical Clinics.* 2020. № 104. P. 293–311. DOI : https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007
9. Chen D.I., Shen J., Zhao W., Wang T., Han L., Hamilton J., Im H. Osteoarthritis: toward a comprehensive understanding of pathological mechanism. *Bone research.* 2017. № 5. P. 1–13. DOI: https://doi.org/10.1038/boneres.2016.44
10. Cope P.J., Ourradi K., Li Y., Sharif M. Models of osteoarthritis: the good, the bad and the promising. *Osteoarthritis and cartilage.* 2019. № 27. P. 230–239. DOI: https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.09.016
11. Hawker Gillian A. Osteoarthritis is a serious disease. *Clinical and Experimental Rheumatology.* 2019. № 37. P. 3–6.
12. Knights A.J., Redding S.J., Maerz T. Inflammation in osteoarthritis: the latest progress and ongoing challenges. *Current opinion in rheumatology.* 2023. № 35(2). P. 128–134. DOI: https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000923
13. van den Bosch M.H.J. Osteoarthritis year in review 2020: biology. *Osteoarthritis and cartilage.* 2021. № 29. P. 143–150. DOI: https://doi.org/10.1016/j.joca.2020.10.006
14. Sharma L. Osteoarthritis of the Knee. *The new England journal of medicine.* 2021. № 384. P. 51–59. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJMcp1903768

2. Golub O, Liadova T, Volobueva O, Chernusky V, Popov M, Letiaho H, Pavlikova K. Role of pathogenic and mentally pathogenic microflora, which are localized in the orotopharynx in the ethiopathogenesis of secondary osteoarthrosis. *Actual problems of modern medicine*. 2023;12:22–8. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2023-12-03
3. Korotkyi OH. Biochemical mechanisms of cartilage remodeling in experimental osteoarthritis [dissertation]. 03.00.04. Kyiv; 2021:310 In Ukrainian).
4. Osadchenko SM. Changes in the metabolism of cartilaginous and bone tissue of synovial joints in osteoarthritis. *Clinical pharmacy.* 2011;3:13–6. (In Ukrainian).
5. Sibyl MG. Clinical biochemistry: a study guide for students of higher educational institutions of physical education. Lviv; 2015:228 (In Ukrainian).
6. Chernushenko YeF, Kogosova LS. Immunological studies in the clinic. Kyiv: Zdorov'ya; 1978:159. [in Ukrainian].
7. Shirobokova VP. Medical microbiology, virology and immunology: textbook for students. higher med. education Institutions Vinnytsia: Nova Kniga. 2021:920. (In Ukrainian).
8. Abramoff B, Franklin E Caldera. Osteoarthritis: pathology, diagnosis, and treatment options. *Medical Clinics.* 2020;104:293–311. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007
9. Chen DI, Shen J, Zhao W, Wang T, Han L, Hamilton J, Im H. Osteoarthritis: toward a comprehensive understanding of pathological mechanism. *Bone research.* 2017;5:1–13. DOI: https://doi.org/10.1038/boneres.2016.44
10. Cope, PJ, Ourradi K, Li Y, Sharif M. Models of osteoarthritis: the good, the bad and the promising. *Osteoarthritis and cartilage.* 2019;27:230–9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.09.016
11. Hawker Gillian A. Osteoarthritis is a serious disease. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2019;37:3–6.
12. Knights AJ, Redding SJ, Maerz T. Inflammation in osteoarthritis: the latest progress and ongoing challenges. *Current opinion in rheumatology.* 2023;35(2):128–34. DOI: https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000923
13. van den Bosch MHJ. Osteoarthritis year in review 2020: biology. *Osteoarthritis and cartilage.* 2021;29:143–50. DOI: https://doi.org/10.1016/j.joca.2020.10.006
14. Sharma L. Osteoarthritis of the Knee. *The new England journal of medicine*. 2021;384:51–9. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJMcp1903768

Перспективи подальших досліджень / Prospects for further research

Проведене дослідження показало, що виявлені зміни біогенних амінів та аутоантитіл, є важливим доповненням діагностичного комплексу, це дозволить проводити ранню імунодіагностику та розробити імунокоригуючу терапію у пацієнтів з вторинним остеоартритом.

The conducted study showed that the detected changes in biogenic amines and autoantibodies are an important addition to the diagnostic complex, which will allow early immunodiagnosis and the development of immunocorrective therapy in patients with secondary osteoarthritis.

Конфлікт інтересів / Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

The authors of the manuscript consciously certify the absence of actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the provided materials or who sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування / Funding information

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, медичного факультету, кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування, номер державної реєстрації: 0123U105022, фундаментальна, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

The article is a fragment of the planned research work of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process caused by bacteria, viruses, viral – bacterial associations in the acute, protracted and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics», state registration number: 0123U105022, fundamental, implementation period: 2023–2028, head – Head of the Department, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Голуб Олексій Ігорович – аспірант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: o.golub.med@gmail.com
моб.: +38 (063) 499-21-20
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Волобуєва Ольга Вікторівна – кандидат медичних наук, доцент, завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: o.volobyeva@karazin.ua
моб.: +38 (099)048-31-18
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Чернуський В'ячеслав Григорович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua
моб.: +38 (095) 146-36-17
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Летяго Ганна Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри педіатрії медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: letyago@karazin.ua
моб.: +38 (099) 778-37-23
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Солдатенко Інна Вікторівна – кандидат медичних наук, доцент, лікар ревматолог, Довірча служба Національної служби охорони здоров'я Льюїшема і Грінвіча, Хай-стріт, Льюїшем, м. Лондон, Сполучене Королівство Великої Британії, SE13 6LH;
e-mail: soldinna@gmail.com
моб.: +44 (020) 833-330-00
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Golub Oleksiy Ihorovych – Postgraduate student of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: o.golub.med@gmail.com
моб.: +38 (063) 499-21-20
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Volobuieva Olga Viktorivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: o.volobyeva@karazin.ua
моб.: +38 (099)048-31-18
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Chernusky Viacheslav Hryhorovych – Doctors of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua
моб.: +38 (095) 146-36-17
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Letiaho Hanna Volodymyrivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor Department of Pediatrics V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: letyago@karazin.ua
моб.: +38 (099) 778-37-23
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.*

Soldatenko Inna Viktorivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Specialty Doctor Rheumatologist, Lewisham and Greenwich NHS Trust, High Street, Lewisham, London, The United Kingdom of Great Britain; SE13 6LH;
e-mail: soldinna@gmail.com,
tel.: +44 (020) 833-330-00
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 06.08.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 26.09.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 122–132
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):122–132 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-02
УДК: 618.19-006.6-085.277.3]-097

Дослідження стану клітинного та гуморального імунітету у хворих на рак грудної залози при проведенні неоад'ювантної хіміотерапії

Отченаш Н.М.[1,2], https://orcid.org/0009-0004-0848-7308, e-mail: nat.otchenash@gmail.com
Потьомкін М.Ю.[3], https://orcid.org/0000-0002-2384-2011, email: mykhailp@ucr.edu

[1]*Комунальне некомерційне підприємство Харківської обласної ради «Обласний центр онкології» Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна*
[2]*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна*
[3]*Університет Каліфорнії у Ріверсайді, Каліфорнія, Сполучені Штати Америки*

Study of the state of cellular and humoral immunity in breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy

Otchenash N.M.[1,2], https://orcid.org/0009-0004-0848-7308, e-mail: nat.otchenash@gmail.com
Potomkin M.Yu.[3], https://orcid.org/0000-0002-2384-2011, email: mykhailp@ucr.edu

[1]*Communal non-profit enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional Center of Oncology» of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*
[2]*V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*
[3]*University of California Riverside, California, United States of America*

Ключові слова:

рак грудної залози, імунна відповідь, клітинний та гуморальний імунітет, неоад'ювантна поліхіміотерапія.

Для кореспонденції:

Отченаш Наталя Миколаївна
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: nat.otchenash@gmail.com

© *Отченаш Н.М., Потьомкін М.Ю., 2024.*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. В структурі сучасних онкологічних захворювань однією із актуальних проблем онкології є рак грудної залози (РГЗ), який посідає друге місце серед онкологічної патології в усьому світі. Незважаючи на профілактичні заходи та успіхи, що досягнуті у терапії РГЗ, рівень захворюваності невпинно зростає. Аналіз даних Всесвітньої організації охорони здоров'я довів, що РГЗ є найпоширенішим онкологічним захворюванням у світі. Кількість втрачених років здорового життя (DALYs) жінок із цим діагнозом у світі перевищує аналогічний показник будь-якого іншого виду раку у жінок. РГЗ зустрічається в усіх країнах світу у жінок будь-якого віку після досягнення статевої зрілості, однак у старшому віці рівень захворюваності зростає.

Сучасне лікування РГЗ на сьогодні залишається етапним, багатокомпонентним процесом, який передбачає індивідуальний підхід. При місцево-поширеному РГЗ основним стандартом є неоад'ювантна поліхіміотерапія (НАХТ). Проведення неоад'ювантної системної терапії дозволяє in vivo визначити чутливість пухлини до хіміотерапевтичних засобів, виявити прогнозуючі «маркери», «зменшити» стадію онкологічного процесу і виконати органозберігальне оперативне втручання у даної категорії хворих. Однак, застосування поліхіміотерапії (ПХТ) при РГЗ може призводити до появи побічних ефектів, наявність яких залежить від типу препарату, дози діючої речовини, тривалості лікування і особливостей імунного статусу хворого.

Мета роботи – вивчення та аналіз даних клітинної та гуморальної ланки імунітету у хворих на РГЗ при проведенні курсу неоад'ювантної ПХТ, які знаходилися на лікуванні у Комунальному некомерційному підприємстві Харківської обласної ради «Обласний центр онкології».

Матеріали та методи. Імунологічне дослідження було проведено у 46 хворих на рак грудної залози віком 32–58 років. Середній вік пацієнток склав 44,8 ± 12,4 роки. Контрольну групу склали 20 здорових осіб без ознак явної гострої та хронічної соматичної патології.

Визначення фенотипу лімфоцитів крові проводилося за допомогою проточної лазерної цитометрії з використанням апарата FACS-Calibur (США) та моноклональних антитіл (МАТ). Для ідентифікації на клітинах $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD25^+$, $CD8^+CD28^+$, $CD8^+CD28^-$ використовували відповідні антитіла,

помічені FITC. Для ідентифікації в цитоплазмі Т-лімфоцитів ІНФγ (Th1-клітини), ІЛ-4 (Th2-клітини) ТФРβ1 (Th3-клітини) використовували моноклональні антитіла ІНФγ – PC-5, ІЛ-4 – PE, ТФРβ – FITC (eBioscience, Beckman Caulter, R&D System). Усі стадії підготовки проб для лазерної цитофлюорометрії проводили згідно з протоколами виробника.

Дослідження було проведено у динаміці лікування до початку 1-го курсу (I період), після 6-го курсу (II період) НАХТ. Матеріалом для дослідження була сироватка крові хворих на РГЗ, яка вивчалася в динаміці лікування.

Статистичну обробку даних проводили з використанням програмного пакета «Statistica 10.0 for Windows». Для кожного варіаційного ряду розраховували середню арифметичну (M), середнє квадратичне відхилення (σ), середню помилку середньої арифметичної (m). Для виявлення вірогідних відмінностей використовували t-критерій Стьюдента. Відмінності вважали вірогідними при рівні значень $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. При оцінці відносного вмісту субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на РГЗ до початку проведення НАХТ виявлено проліферацію Т-клітин за рахунок підвищеного вмісту $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$-клітин. Розподіл хворих за відносним вмістом CD16+-клітин був досить рівномірним. Відносний вміст В-лімфоцитів ($CD20^+$-клітини) у хворих на РГЗ до початку проведення НАПХ був підвищеним у 47,8%, мав нормальні значення у 43,5% хворих, знижені показники було виявлено у 8,7%. Підвищений вміст $CD8^+CD28^+$-кл, % було виявлено у 32,6% хворих, нормальні значення – у 37%, зниження відносного вмісту – у 30,4%.

Дослідження відносного вмісту Т-клітин з фенотипом $CD8^+CD28^-$-кл, %, встановило підвищення у 21,7%, нормальні рівні – у 60,9%, зниження рівнів – у 17,4% хворих. Вміст $CD25^+$-кл, % був підвищеним у 50%, нормальні значення зареєстровано у 32,6%, зниження відносного вмісту виявлено у 17,4%. Підвищення співвідношення Th1/Th2 клітин було виявлено у 47,8%, у 34,8% показник Th1/Th2 коливався у межах контрольних значень, у 17,4% було виявлено зниження даного показника.

Дослідження відносного вмісту $CD3^+$-клітин після завершення курсу НАХТ у хворих на РГЗ дозволило виявити перевищення показників відносно нормальних значень у 26,1%, у 21,7% показники коливались у межах контрольних значень, а в 52,2% встановлено зниження показника. Відносний вміст $CD4^+$-клітин % виявився вищим за нормальні показники у 21,7%, у межах норми – у 23,9%, був зниженим у 54,4%. Після завершення курсу НАПХ у 13% реєструвався підвищений вміст $CD8^+$-клітин %, нормальні значення було виявлено у 26,1%, зниження рівня у 60,9% хворих.

Дослідження відносного вмісту $CD16^+$-клітин виявило підвищені рівні даного показника у 19,6%, нормальні рівні у 17,4%, знижені рівні – у 63% хворих.

Відносний вміст $CD20^+$-клітин був вищим у 19,6%, нормальні значення були виявлені у 10,8%, знижені – у 69,6% хворих. Підвищення та нормальний вміст $CD8^+CD28^+$-кл, були виявлені в однакової частини хворих, знижені показники виявлено у 47,8%. Вміст $CD8^+CD28^-$-кл виявився збільшеним у 17,4%, нормальні значення у 26,1%, зниження – у 56,5% хворих. Розподіл хворих за показниками відносного вмісту $CD25^+$-клітин виявив підвищення рівнів у 23,9%, нормальні значення у 17,4%, зниження рівнів у 58,7%.

Дослідження співвідношення Th1/Th2 клітин виявило збільшення показника у 21,7%, нормальні значення у 26,1%, знижені значення – у 52,2% хворих.

Висновки. При проведенні неоад'ювантної поліхіміотерапії у хворих на РГЗ дослідження стану клітинного та гуморального імунітету дозволило встановити вірогідне зменшення відносного вмісту основних показників імунограми.

Зменшення відносного вмісту основних класів імунокомпенентних клітин потребує динамічного спостереження та корекції ускладнень, пов'язаних з імуносупресивними станами, які викликані хіміотерапевтичними засобами, що застосовуються при проведенні НАПХ.

Практичне використання даних показників може бути застосовано у практичній діяльності хіміотерапевтів, онкологів та клінічних імунологів.

Для цитування:

Отченаш Н.М., Потьомкін М.Ю. Дослідження стану клітинного та гуморального імунітету у хворих на рак грудної залози при проведенні неоад'ювантної хіміотерапії. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 122–132. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-02

Key words:

breast cancer, immune response, cellular and humoral immunity, neoadjuvant polychemotherapy.

ABSTRACT

Background. Among modern oncological diseases, breast cancer (BC) is one of the most pressing issues in oncology, ranking second among oncological pathologies worldwide. Despite preventive measures and the successes achieved in BC therapy, the incidence rate continues to rise. An analysis of World Health Organization data

For correspondence:

Otchenash Natalya Mykolayivna
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: nat.otchenash@gmail.com

© Otchenash N.M., Potomkin M.Yu., 2024

has shown that BC is the most common cancer globally. The number of disability-adjusted life years (DALYs) lost by women with this diagnosis exceeds that for any other type of cancer in women. BC is found in all countries and affects women of any age after reaching sexual maturity, though the incidence rate increases with age.
Current treatment for BC remains a stepwise, multi-component process that requires an individualized approach. In cases of locally advanced BC, the primary standard is neoadjuvant polychemotherapy (NACT). Neoadjuvant systemic therapy allows for in vivo determination of tumor sensitivity to chemotherapeutic agents, the identification of predictive «markers», the «downgrading» of the cancer stage, and organ-preserving surgical interventions for this patient category. However, the use of polychemotherapy (PCT) in BC can lead to side effects, the occurrence of which depends on the type of drug, dose of the active substance, treatment duration, and the immune status of the patient.
Purpose – the study aimed to investigate and analyze data on the cellular and humoral immunity in BC patients undergoing neoadjuvant PCT who were treated at the KNP «Regional oncology center».
Materials and Methods. An immunological study was conducted on 46 BC patients aged 32–58 years, with an average age of 44.8 ± 12.4 years. The control group consisted of 20 healthy individuals without signs of acute or chronic somatic pathology. The phenotype of blood lymphocytes was determined by flow cytometry using a FACS-Calibur device (USA) and monoclonal antibodies (MAbs). Antibodies labeled with FITC were used to identify $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD25^+$, $CD8^+CD28^+$, $CD8^+CD28^-$ on the cells. Monoclonal antibodies INFγ – PC-5, IL-4 – PE, TGFβ – FITC (eBioscience, Beckman Coulter, R&D System) were used to identify INFγ (Th1 cells), IL-4 (Th2 cells), and TGFβ1 (Th3 cells) in T-lymphocytes. All sample preparation steps for laser cytometry were conducted according to the manufacturer's protocols.
The study was carried out during the treatment, before the start of the first course (Period I) and after the sixth course (Period II) of NACT. The material for the study was the serum of BC patients, analyzed dynamically during treatment.
Statistical data processing was performed using the «Statistica 10.0 for Windows» software package. For each data set, the mean (M), standard deviation (σ), and standard error of the mean (m) were calculated. Student's t-test was used to identify significant differences, considered reliable at $p < 0.05$.
Results. When evaluating the relative content of lymphocyte subpopulation composition in breast cancer patients prior to the start of neoadjuvant chemotherapy (NACT), a proliferation of T-cells was observed due to an increased content of $CD3^+$, $CD4^+$, and $CD8^+$ cells. The distribution of patients by the relative content of $CD16^+$ cells was quite uniform. The relative content of B-lymphocytes ($CD20^+$ cells) in breast cancer patients before NACT was elevated in 47.8%, had normal values in 43.5% of patients, and decreased values were found in 8.7%. An increased content of CD8+CD28+ cells, % was found in 32.6%, normal values were found in 37% of patients, and a decrease in relative content was observed in 30.4%.
The study of the relative content of T-cells with the $CD8^+CD28^-$ phenotype, %, showed an increase in 21.7%, normal levels in 60.9%, and a decrease in 17.4%. The content of CD25+ cells, % was elevated in 50%, normal values were recorded in 32.6%, and a decrease in relative content was observed in 17.4%. An increase in the Th1/Th2 cell ratio was found in 47.8%, in 34.8% the Th1/Th2 index remained within control values, and a decrease in this index was found in 17.4%.
The study of the relative content of CD3+ cells after completing the course of NACT in breast cancer patients revealed an increase in values above the normal range in 26.1%, in 21.7% values were within control limits, and a decrease was noted in 52.2%. The relative content of $CD4^+$ cells % was higher than normal in 21.7%, within normal limits in 23.9%, and reduced in 54.4%. After completing the course of NACT, an increased content of $CD8^+$ cells % was registered in 13%, normal values were found in 26.1%, and a decrease in level was observed in 60.9%.
The study of the relative content of $CD16^+$ cells revealed elevated levels in 19.6%, normal levels in 17.4%, and decreased levels in 63%. The relative content of $CD20^+$ cells was higher in 19.6%, normal values were found in 10.8%, and reduced in 69.6% of patients. Increased and normal content of $CD8^+CD28^+$ cells was found in equal parts of patients, while decreased values were found in 47.8%. The content of $CD8^+$CD28- cells showed an increase in 17.4%, normal values in 26.1%, and a decrease in 56.5%. The distribution of patients by the relative content of $CD25^+$ cells revealed an increase in 23.9%, normal values in 17.4%, and a decrease in 58.7%. The study of the Th1/Th2 cell ratio showed an increase in 21.7%, normal values in 26.1%, and decreased values in 52.2%.
Conclusions. The study of cellular and humoral immunity in BC patients undergoing neoadjuvant PCT revealed a significant decrease in the relative content of major immunogram parameters. The reduction in the relative content of the main classes of immune-competent cells requires dynamic monitoring and correction of complications associated with immunosuppressive conditions induced by chemotherapeutic agents used in NACT. The practical use of these indicators can be applied by chemotherapists, oncologists, and clinical immunologists.

For citation:

Otchenash NM, Potomkin MYu. Study of the state of cellular and humoral immunity in breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):122–132. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-02

ВСТУП

Однією із актуальних проблем у структурі онкологічних захворювань є рак грудної залози (РГЗ), який посідає одне із провідних місць серед онкологічних захворювань у всьому світі [1]. Безумовно, сучасні профілактичні заходи та успіхи, що досягнуті у терапії РГЗ, є ефективними, однак рівень захворюваності на дану онкологічну патологію характеризується тенденцією до невпинного зростання [1, 2]. Статистика захворюваності на РГЗ у 2023 році в світі свідчить, що майже у 2,3 млн жінок було діагностовано дану патологію, при цьому серед них 666 103 летальних випадків [1, 3]. За попередніми оцінками Національного інституту раку орієнтовна кількість нових випадків РГЗ тільки у США у 2024 році буде зареєстрована у 310720 жінок і приблизно 42250 осіб помруть від цієї хвороби [4, 5]. За даними Національного реєстру раку у 2020 році в Україні зареєстровано 12824 випадки РГЗ (12736 жінки та 88 чоловіків), а 4998 осіб померли внаслідок цієї недуги (4960 жінок і 38 чоловіків) – без урахування даних Донецької, Луганської областей, АР Крим та м. Севастополь. Тобто на кожні 10 нових випадків захворювання в Україні реєструють 3 смерті від нього [6]. РГЗ зустрічається у всіх країнах світу у жінок будь-якого віку після досягнення статевої зрілості, однак у старшому віці рівень захворюваності зростає [1, 4, 6].

Слід зазначити, що лікування РГЗ на сьогодні лишається етапним, багатокомпонентним процесом, який передбачає індивідуальний підхід до кожного пацієнта. Основним стандартом при лікуванні місцево-поширеного РГЗ є неоад'ювантна поліхіміотерапія (НАХТ). Проведення неоад'ювантної системної терапії дозволяє *in vivo* визначити чутливість пухлини до хіміотерапевтичних засобів, виявити прогнозуючі «маркери», «зменшити» стадію онкологічного процесу і виконати органозберігальне оперативне втручання у даної категорії хворих [7–9].

Однак, застосування поліхіміотерапії (ПХТ) при РГЗ може призводити до появи побічних ефектів, наявність яких залежить від типу препарату, дози діючої речовини, тривалості лікування і особливостей імунного статусу хворої [10–11]. Найпоширенішими із можливих побічних ефектів є постхіміотерапевтична алопеція, розвиток тяжкого виразкового стоматиту, втрата апетиту або зміна маси тіла, нудота і блювота, діарейний синдром, порушення когнітивної функції, полінейропатії, пригнічення функції кровотворенння та багато інших. Побічні ефекти ПХТ можуть призвести до появи тяжких імуносупресивних станів, які, в свою чергу, асоційовані з розвитком вторинних бактеріальних інфекцій, кровотеч, вираженої анемії [12, 13].

Мета роботи – вивчення та аналіз даних показників клітинної та гуморальної ланки імунітету у хворих на РГЗ при проведенні курсу неоад'ювантної поліхіміотерапії, які знаходилися на лікуванні у Комунальному некомерційному підприємстві Харківської обласної ради «Обласний центр онкології».

INTRODUCTION

One of the pressing issues within the structure of oncological diseases is breast cancer (BC), which ranks among the leading types of cancer worldwide [1]. Undoubtedly, modern preventive measures and the progress achieved in BC therapy are effective; however, the incidence rate of this oncological condition continues to show an upward trend [1, 2]. Statistics for 2023 indicate that nearly 2.3 million women worldwide were diagnosed with BC, with 666,103 resulting deaths [1, 3]. Preliminary estimates by the National Cancer Institute project that in the United States alone, approximately 310,720 new cases of BC will be recorded in 2024, with around 42,250 deaths from the disease [4, 5]. According to the National Cancer Registry, in 2020, Ukraine registered 12,824 cases of BC (12,736 women and 88 men), with 4,998 deaths (4,960 women and 38 men) – excluding data from Donetsk, Luhansk regions, the Autonomous Republic of Crimea, and the city of Sevastopol. This equates to three deaths for every 10 new cases diagnosed in Ukraine [6]. BC is found in all countries and affects women of any age post-puberty, with incidence rates increasing with age [1, 4, 6].

It should be noted that BC treatment remains a phased, multi-component process that requires an individualized approach for each patient. The main standard for treating locally advanced BC is neoadjuvant polychemotherapy (NACT). Neoadjuvant systemic therapy allows for *in vivo* assessment of tumor sensitivity to chemotherapeutic agents, the identification of predictive «markers», reduction of the cancer stage, and organ-preserving surgery for this category of patients [7–9].

However, the use of polychemotherapy (PCT) in BC can lead to side effects, which depend on the type of drug, dosage of the active substance, duration of treatment, and the patient's immune status [10–11]. The most common side effects include post-chemotherapy alopecia, severe ulcerative stomatitis, loss of appetite or weight changes, nausea and vomiting, diarrhea, cognitive dysfunction, polyneuropathies, suppression of hematopoiesis, and many others. The side effects of PCT can result in severe immunosuppressive states, which, in turn, are associated with secondary bacterial infections, bleeding, and significant anemia [12, 13].

Objective – the study involved the examination and analysis of cellular and humoral immunity indicators in breast cancer (BC) patients undergoing a course of neoadjuvant polychemotherapy, who were being treated at the KNP «Regional oncology center».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України – Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласний центр онкології» (директор Лихман В.М.)

У дослідження було включено 46 жінок з IIA та IIIB стадіями (T1–3N0–3M0 стадії) РГЗ. Включення пацієнтів до програми обстеження та лікування проводилося після підтвердження діагнозу РГЗ. Пацієнткам, згідно зі стандартами, було призначено курс передопераційної хіміотерапії за схемою АС (доксорубіцин 60 мг/м^2, ендоксан 600 мг/м^2 один раз у 2 або 3 тижні, 4 курси, після цієї схеми – паклітаксел 175 мг/м^2 один раз у 3 тижні, 4 введення). Під час дослідження дотримувалися положень Гельсінської Декларації Всесвітньої медичної асоціації [14].

Дослідження імунного статусу було проведено у 46 хворих на РГЗ віком 32–58 років. Середній вік пацієнток складав 44,8 ± 12,4 роки.

Контрольну групу склали 20 здорових осіб без ознак явної патології.

Стан системної імунної відповіді був оцінений за популяційним та субклітинним станом лімфоцитів периферичної крові. Дослідження було проведено у динаміці лікування до початку 1-го курсу (I період), після 6-го курсу (II період) НАХТ. Матеріалом для дослідження була сироватка крові хворих на РГЗ, яка була досліджена в динаміці лікування. Кров для досліджень забирали натще із ліктьової вени у кількості 10 мл у стерильну пробірку типу «Епендорф».

Визначення фенотипу лімфоцитів крові проводилося за допомогою проточної лазерної цитометрії з використанням апарата FACS-Calibur (США) та моноклональних антитіл (МАТ). Для ідентифікації на клітинах CD3$^+$, CD4$^+$, CD8$^+$, CD16$^+$, CD20$^+$, CD25$^+$, CD8$^+$CD28$^+$, CD8$^+$CD28$^-$ використовували відповідні антитіла помічені FITC. Для ідентифікації в цитоплазмі Т-лімфоцитів ІНФγ (Th1-клітини), ІЛ-4 (Th2-клітини) ТФРβ1 (Th3-клітини) використовували моноклональні антитіла ІНФγ – РС-5, ІЛ-4 – РЕ, ТФРβ – FITC (eBioscience, Beckman Caulter, R&D System). Усі стадії підготовки проб для лазерної цитофлюорометрії проводили згідно з протоколами виробника [15, 16].

Статистичну обробку даних проводили з використанням програмного пакета «Statistica 10.0 for Windows». Для кожного варіаційного ряду розраховували середню арифметичну (M), середнє квадратичне відхилення (σ), середню помилку середньої арифметичної (m). Для виявлення вірогідних відмінностей використовували t-критерій Стьюдента. Відмінності вважали вірогідними при рівні значень $p < 0,05$.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at the clinical base of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the Medical Faculty at V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, in conjunction with the Communal non-profit enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional oncology center» (Director: V.M. Likhman).

The study included 46 women with stage IIA and IIIB breast cancer (T1–3N0–3M0 stages). Inclusion of patients in the examination and treatment program was - out after confirming the diagnosis of breast cancer. According to the standards, patients were prescribed a course of preoperative chemotherapy following the AC regimen (doxorubicin 60 mg/m^2, cyclophosphamide 600 mg/m^2 once every 2 or 3 weeks for 4 cycles; followed by paclitaxel 175 mg/m^2 once every 3 weeks for 4 administrations). The study adhered to the provisions of the Helsinki Declaration of the World Medical Association [14].

The immune status assessment was conducted in 46 women with breast cancer aged 32 to 58 years, with a mean age of 44.8 ± 12.4 years. The control group consisted of 20 healthy individuals without obvious pathology.

The status of the systemic immune response was evaluated based on the population and subcellular state of peripheral blood lymphocytes. The study was conducted dynamically throughout treatment, before the first course (Phase I) and after the sixth course (Phase II) of NACT. The material for the study was serum from breast cancer patients, which was assessed dynamically during treatment. Blood samples for analysis were collected in the morning from the antecubital vein in a volume of 10 ml into a sterile Eppendorf tube.

Lymphocyte phenotyping in blood was performed using flow cytometry with a FACS-Calibur (USA) and monoclonal antibodies (MABs). FITC-labeled antibodies were used to identify CD3$^+$, CD4$^+$, CD8$^+$, CD16$^+$, CD20$^+$, CD25$^+$, CD8$^+$CD28$^+$, and CD8$^+$CD28$^-$ cells. To identify INFγ (Th1 cells), IL-4 (Th2 cells), and TGFβ1 (Th3 cells) in the cytoplasm of T-lymphocytes, monoclonal antibodies INFγ–PC-5, IL-4–PE, and TGFβ–FITC (eBioscience, Beckman Coulter, R&D System) were utilized. All stages of sample preparation for laser cytofluorometry were conducted according to the manufacturer's protocols [15, 16].

Statistical data processing was performed using the «Statistica 10.0 for Windows» software package. For each variation series, the mean (M), standard deviation (σ), and standard error of the mean (m) were calculated. Significant differences were assessed using the Student's t-test, with differences considered significant at $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження було проведено з метою оцінки системних та динамічних порушень імунних показників, пов'язаних з проведенням НАХТ у хворих на РГЗ.

При проведенні НАХТ у хворих на РГЗ у різних періодах спостереження абсолютна кількість лейкоцитів та лімфоцитів периферичної крові не відріз-

RESULTS AND DISCUSSION

The study was conducted to evaluate the systemic and dynamic changes in immune parameters associated with the administration of neoadjuvant chemotherapy (NACT) in patients with breast cancer (BC).

During NACT in breast cancer patients at various observation periods, the absolute counts of leukocytes

нялася статистично вірогідно і складала 5,48 ± 1,81 та 2,45 ± 1,82 × 10^9/л проти контрольних значень – 5,35 ± 1,47 × 10^9/л (p > 0,05) та 2,74 ± 0,63 і 1,62 ± 0,78 × 10^9/л проти 2,78 ± 0,19 х 10^9/л (p > 0,05).

Відносний вміст $CD3^+$-кл, % у хворих на РГЗ до проведення НАТХ не мав вірогідних відмінностей порівняно з контрольними показниками – 66,48 ± 3,8 проти 69,67 ± 4,51 кл, % (p > 0,05), однак у II періоді відносний вміст $CD3^+$-кл, % зменшувався у 1,3 та 1,4 рази та відрізнявся статистично вірогідно порівняно з показниками контрольної групи та до початку проведення ПХТ і складав – 49,2 ± 4,81 кл, % (p < 0,01).

Вміст $CD4^+$-кл, % до початку проведення НАХТ також не відрізнявся від контрольних значень і складав 41,58 ± 3,07 проти 42,4 ± 1,39 кл, % (p > 0,05). На момент закінчення лікування показники $CD4^+$-кл, % знижувалися та характеризувалися вірогідними відмінностями від показників контролю та до початку проведення терапії – 30,1 ± 4,08 кл, % (p < 0,01).

Аналогічна тенденція характеризувала і відносний вміст $CD8^+$-кл, %, які є глікопротеїнами, що виявляються на поверхні Т-лімфоцитів та беруть активну участь у розпізнаванні антигенних пептидів у контексті з молекулами головного комплексу гістосумісності I класу. Показники $CD8^+$-кл, % не відрізнялись статистично вірогідно між показниками контрольних значень та у I періоді 29,7 ± 1,81 проти 24,26 ± 2,75 кл, % (p > 0,05). У другому періоді статистична вірогідність була відзначена між контрольними показниками 19,8 ± 2,42 проти 29,7 ± 1,81 кл, % (p < 0,001).

Дослідження відносного вмісту $CD16^+$-кл, %, який є мембранним рецептором, що відіграє основну роль в антитілозалежній клітинній цитотоксичності, у II періоді відзначався статистично вірогідно як з показниками контрольної групи, так і показниками I періоду і складав 12,79 ± 0,6 проти 14,64 ± 0,49 кл, % (p < 0,05) та 12,79 ± 0,6 проти 15,77 ± 0,8 кл, % (p < 0,01).

Відносний вміст CD20+-кл, % у хворих на РГЗ до проведення НАТХ складав 14,82 ± 1,1 кл, % не відрізняючись вірогідністю з показниками контрольної групи (p > 0,05). На момент закінчення терапії відносний вміст CD20+-кл, % складав 9,17 ± 1,8 кл, %, що було нижче контрольних значень та до початку терапії в 1,5 рази (p < 0,05) та 1,6 рази (p < 0,01).

Показники відносного вмісту CD8+CD28+-кл, % характеризувалися тенденцією до зменшення при проведенні НАХТ, та не відрізнялися статистично вірогідно у групах порівняння та контрольними значеннями.

Однак відносний вміст $CD8+CD28^-$-кл, % у II періоді відрізнявся статистичною вірогідністю між періодами та показниками контрольної групи і складав 8,4 ± 0,5 проти 5,5 ± 0,4 кл, % у I періоді (p < 0,001) та 5,3 ± 0,3 кл, % у контрольній групі (p < 0,001).

Дослідження співвідношення $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ не виявило статистичної вірогідності між контрольними значеннями та показниками періодів дослідження.

Відносний вміст $CD25^+$-кл, %, який є білком із групи диференційних антигенів лейкоцитів та є α-субодиницею рецептора інтерлейкіну 2 (IL-2Rα) при динамічному спостереженні характеризувався зменшенням при проведенні НАХТ, не відрізняючись статистичною вірогідністю порівняно з показниками контрольної групи (p > 0,05), однак між періодами ці показники відрізнялися статистично і складали 17,42 ± 1,2 проти 12,38 ± 1,79 кл, %, (p < 0,05).

and lymphocytes in peripheral blood did not show statistically significant differences, measuring 5.48 ± 1.81 and 2.45 ± 1.82 × 10^9/L compared to control values of 5.35 ± 1.47 × 10^9/L (p > 0.05) and 2.74 ± 0.63 and 1.62 ± 0.78 × 10^9/L compared to 2.78 ± 0.19 × 10^9/L (p > 0.05).

The relative content of $CD3^+$ cells, % in breast cancer patients before NACT did not show significant differences compared to control values – 66.48 ± 3.8 versus 69.67 ± 4.51 cells, % (p > 0.05); however, in Phase II, the relative content of $CD3^+$ cells decreased by 1.3 to 1.4 times and was statistically significant compared to the control group and before chemotherapy, measuring 49.2 ± 4.81 cells, % (p < 0.01).

The content of $CD4^+$ cells, % before the start of NACT also did not differ from control values and was 41.58 ± 3.07 versus 42.4 ± 1.39 cells, % (p > 0.05). At the end of treatment, the CD4+ cell percentage decreased and showed statistically significant differences from both control values and prior to therapy – 30.1 ± 4.08 cells, % (p < 0.01).

A similar trend was observed in the relative content of $CD8^+$ cells, %, which are glycoproteins found on the surface of T-lymphocytes and actively participate in recognizing antigenic peptides in conjunction with class I major histocompatibility complex molecules. The $CD8^+$ cell percentages did not differ statistically between control values and in Phase I, measuring 29.7 ± 1.81 versus 24.26 ± 2.75 cells, % (p > 0.05). In Phase II, a statistically significant difference was noted between control values of 19.8 ± 2.42 versus 29.7 ± 1.81 cells, % (p < 0.001).

The study of the relative content of $CD16^+$ cells, %, which is a membrane receptor playing a key role in antibody-dependent cellular cytotoxicity, showed statistically significant differences in Phase II compared to both the control group and Phase I, measuring 12.79 ± 0.6 versus 14.64 ± 0.49 cells, % (p < 0.05) and 12.79 ± 0.6 versus 15.77 ± 0.8 cells, % (p < 0.01).

The relative content of $CD20^+$ cells, % in breast cancer patients before NACT was 14.82 ± 1.1 cells, %, not differing significantly from the control group (p > 0.05). At the end of therapy, the relative content of $CD20^+$ cells, % was 9.17 ± 1.8 cells, %, which was lower than the control values and before therapy by 1.5 times (p < 0.05) and 1.6 times (p < 0.01).

The relative content of $CD8^+CD28^+$ cells, % showed a tendency to decrease during NACT and did not differ statistically in comparison groups and control values. However, the relative content of $CD8^+CD28^-$ cells, % in Phase II differed statistically between periods and compared to the control group, measuring 8.4 ± 0.5 versus 5.5 ± 0.4 cells, % in Phase I (p < 0.001) and 5.3 ± 0.3 cells, % in the control group (p < 0.001).

The analysis of the ratio of $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ did not reveal statistical significance between control values and study period measures. The relative content of $CD25^+$ cells, %, a protein from the group of differentiation antigens of leukocytes and the α-subunit of the interleukin-2 receptor (IL-2Rα), during dynamic observation showed a decrease during NACT without statistically significant differences compared to control group values (p > 0.05); however, the measurements between periods were statistically different, measuring 17.42 ± 1.2 versus 12.38 ± 1.79 cells, % (p < 0.05).

Динамічне спостереження відносного вмісту Th1 (ІНФγ⁺), % дозволило встановити відсутність статистичної вірогідності між контрольними значеннями та періодами спостереження (p > 0,05).

Слід зазначити, що відносний вміст Th2 (ІЛ-4+), % у II періоді відрізнявся статистично між показниками I періоду та контрольними значеннями, що складало 6,5 ± 2,38 проти 11,9 ± 1,12 -кл, %, (p < 0,05) та 12,3 ± 1,4 -кл, %, (p < 0,05).

Співвідношення Th1/Th2 також не мало вірогідних відмінностей між періодами та показниками контрольної групи.

Розподіл відносного вмісту показників імунограми серед групи хворих на РГЗ у I періоді відносно нормальних значень представлений на рис. 1.

Dynamic observation of the relative content of Th1 (IFNγ⁺), % indicated no statistical significance between control values and observation periods (p > 0.05). It should be noted that the relative content of Th2 (IL-4⁺), % in Phase II differed statistically from Phase I and control values, measuring 6.5 ± 2.38 versus 11.9 ± 1.12 cells, % (p < 0.05) and 12.3 ± 1.4 cells, % (p < 0.05).

The Th1/Th2 ratio also showed no significant differences between periods and control group values. The distribution of the relative content of immune profile indicators among breast cancer patients in Phase I compared to normal values is presented in Figure 1.

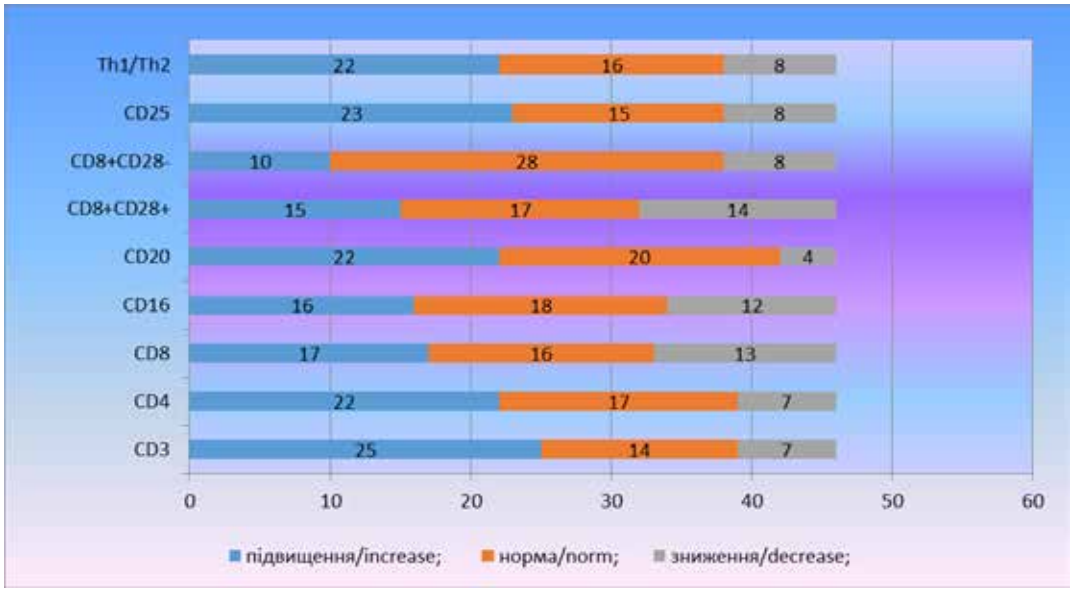

Рис. 1. Розподіл вмісту субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на РГЗ у I періоді (n = 46)
Fig. 1. Distribution of the subpopulation composition of lymphocytes in patients with breast cancer in Phase I (n = 46)

При оцінці субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на РГЗ до початку проведення НАХТ виявлено проліферацію Т-клітин за рахунок підвищеного вмісту CD3⁺, CD4⁺, CD⁸+-клітин.

Так, підвищення відносного вмісту CD3⁺-клітин було виявлено у 25 пацієнтів, що склало 54,3%, нормальні значення CD3⁺-клітин було виявлено у 30,5% (14 хворих), зниження відносного вмісту даного показника було виявлено в 15,2% (7 хворих).

Дослідження відносного вмісту CD4⁺-клітин у хворих на РГЗ у I періоді до початку проведення НАХТ виявило підвищення вмісту у 22 хворих (47,8%), нормальні значення було виявлено у 17 пацієнтів (37%), зниження вмісту – у 7 хворих (15,2%).

Відносний вміст CD8⁺-клітин характеризувався підвищенням у 37% (17 хворих), нормальні значення показника було виявлено у 34,8% (16 хворих), знижений вміст CD8⁺-клітин виявлено у 28,3% (13 хворих).

Розподіл хворих за відносним вмістом CD16⁺-клітин, який є мембранним рецептором, що відіграє роль в антитілозалежній клітинній цитотоксичності був досить рівномірним. Підвищення відносного вмісту було виявлено у 16 хворих (34,8%), нормальні показники значень виявлено у 18 хворих (39,1%), зниження вмісту виявлено у 12 (26,1%) хворих.

Upon assessing the subpopulation composition of lymphocytes in patients with breast cancer prior to the initiation of neoadjuvant chemotherapy (NACT), T-cell proliferation was observed, characterized by increased levels of CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ cells. Specifically, an elevated relative content of CD3⁺ cells was found in 25 patients (54.3%), with normal levels in 14 patients (30.5%), and decreased levels in 7 patients (15.2%).

The relative content of CD4⁺ cells before the commencement of NACT indicated an increase in 22 patients (47.8%), normal values in 17 patients (37%), and a decrease in 7 patients (15.2%). The relative content of CD8⁺ cells showed an increase in 17 patients (37%), normal values in 16 patients (34.8%), and decreased levels in 13 patients (28.3%).

The distribution of patients based on the relative content of CD16⁺ cells, which are membrane receptors crucial for antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, was relatively uniform: an increase was noted in 16 patients (34.8%), normal levels in 18 patients (39.1%), and a decrease in 12 patients (26.1%).

The relative content of B lymphocytes (CD20⁺ cells) in patients with breast cancer before NACT showed an increase in 22 patients (47.8%), normal values in 20 patients (43.5%), and a decrease in 4 patients (8.7%).

Відносний вміст В-лімфоцитів (CD20⁺-клітини) у хворих на РГЗ до початку проведення НАПХ був підвищеним у 22 хворих (47,8%), мав нормальні значення у 20 осіб (43,5%), зниженні показники було виявлено у 4 хворих (8,7%).

Підвищені значення $CD8^+CD28^+$-кл, % було виявлено у 15 хворих (32,6%), нормальні – у 17 хворих (37%), зниження відносного вмісту – у 14 (30,4%) хворих на РГЗ.

Дослідження відносного вмісту Т-клітин з фенотипом $CD8^+CD28^-$-кл, %, що є гетерогенною субпопуляцією клітин, функція яких коливається від імуносупресивної до ефекторної показало, що підвищення рівнів встановлено у 21,7% (10 хворих), нормальні показники виявлено у 60,9% (28 хворих), зниження рівнів виявлено у 17,4% (8 хворих).

Вміст $CD25^+$-кл, % був підвищеним у 23 хворих (50%), нормальні значення зареєстровано у 15 хворих (32,6%), зниження відносного вмісту виявлено у 8 хворих (17,4%).

Підвищення співвідношення Th1/Th2 клітин було виявлено у 22 хворих (47,8%), у 16 хворих (34,8%) показник Th1/Th2 коливався у межах контрольних значень, у 8 хворих (17,4%) було виявлено зниження даного показника.

Результати дослідження відносного вмісту показників імунограми у хворих на РГЗ у II періоді відносно нормальних значень подано на рис. 2.

Increased levels of $CD8^+CD28^+$ cells were observed in 15 patients (32.6%), with normal values in 17 patients (37%) and decreased levels in 14 patients (30.4%). The study of relative content of CD8+CD28- T-cells, a heterogeneous subpopulation of cells with functions ranging from immunosuppressive to effector, showed increased levels in 10 patients (21.7%), normal levels in 28 patients (60.9%), and decreased levels in 8 patients (17.4%).

The content of $CD25^+$ cells was elevated in 23 patients (50%), normal levels were recorded in 15 patients (32.6%), and decreased relative content was noted in 8 patients (17.4%).

An increased Th1/Th2 cell ratio was found in 22 patients (47.8%), while the Th1/Th2 ratio remained within normal values in 16 patients (34.8%), and a decrease was noted in 8 patients (17.4%).

The study's results on the relative content of immune parameters in patients with breast cancer during Phase II indicate significant alterations in immune profiles following NACT (fig. 2).

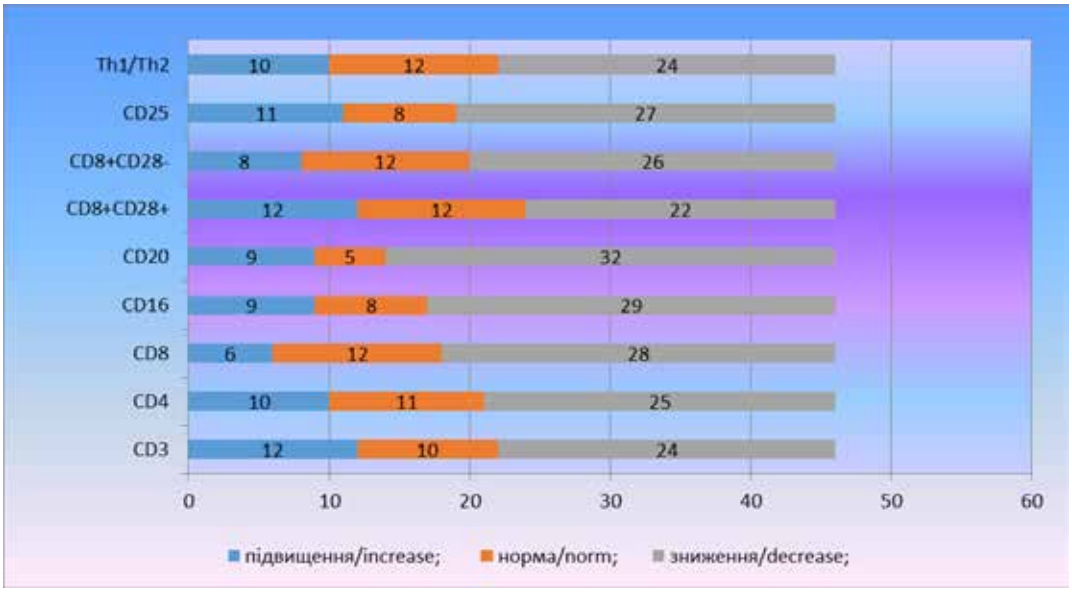

Рис. 2. Розподіл вмісту субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на РГЗ у II періоді (n = 46)
Fig. 2. Distribution of lymphocyte subpopulation content in patients with breast cancer in phase II (n = 46)

Дослідження відносного вмісту $CD3^+$-клітин після завершення курсу НАХТ у хворих на РГЗ дозволило виявити перевищення показників відносно нормальних значень у 12 хворих (26,1%), у 10 хворих (21,7%) показники коливались у межах контрольних значень, а у 24 хворих (52,2%) встановлено зниження показника порівняно з нормальними рівнями.

Відносний вміст $CD4^+$-клітин % виявився вищим за нормальні показники у 10 хворих (21,7%), коливався у межах норми у 11 пацієнтів (23,9%), був зниженими у 25 хворих (54,4%).

The study of the relative content of $CD16^+$ cells revealed increased levels in 9 patients with breast cancer (19.6%), normal levels were found in 8 patients (17.4%), and decreased levels were observed in 29 patients (63%).

The relative content of $CD20^+$ cells was also higher than the control values in 9 patients with breast cancer (19.6%), normal values were found in 5 patients (10.8%), and decreased levels were found in 32 patients (69.6%).

An increase in the content of $CD8^+CD28^+$ cells was observed in 12 patients (26.1%), with the same number

Тільки у 6 хворих на РГЗ (13%) після завершення курсу НАПХ реєструвався підвищений вміст $CD8^+$-клітин %, нормальні значення було виявлено у 12 хворих (26,1%), зниження рівня було виявлено у 28 хворих (60,9%).

Дослідження відносного вмісту $CD16^+$-клітин, виявило підвищені рівні даного показника у 9 хворих на РГЗ (19,6%), нормальні рівні було виявлено у 8 хворих (17,4%), зниження рівнів було виявлено у 29 хворих (63%).

Відносний вміст $CD20^+$-клітин був вищим за контрольні значення також у 9 хворих на РГЗ (19,6%), нормальні значення були виявлено у 5 хворих (10,8%), знижені рівні були виявлені у 32 хворих (69,6%).

Підвищення вмісту $CD8^+CD28^+$-кл, було виявлено у 12 хворих (26,1%), така ж кількість хворих виявлена з нормальними значеннями, знижені показники виявлено у 22 хворих (47,8%).

Аналіз розподілу показників відносно нормальних значень при дослідженні вмісту $CD8^+CD28^-$ кл виявив збільшення вмісту у 8 хворих (17,4%), нормальні значення виявлено у 12 хворих (26,1%), зниження показників виявлено у 26 хворих (56,5%).

Розподіл хворих за показниками відносного вмісту $CD25^+$-клітин виявив підвищення рівнів у 11 хворих (23,9%), нормальні значення у 8 хворих (17,4%), зниження рівнів у 27 хворих (58,7%).

Дослідження співвідношення Th1/Th2 клітин у хворих на РГЗ після завершення НАХТ виявило збільшення показника у 10 хворих (21,7%), нормальні значення у 12 хворих (26,1%), знижені значення у 24 хворих (52,2%).

Таким чином, аналіз динаміки імунних показників у хворих на РГЗ при проведенні НАХТ дозволив виявити значне зменшення відносного вмісту імунокомпетентних клітин, що зумовлено імуносупресивним ефектом хіміотерапії та її наслідків.

of patients showing normal values, while decreased levels were found in 22 patients (47.8%).

The analysis of the distribution of values relative to normal values for $CD8^+CD28^-$ cells showed an increase in content in 8 patients (17.4%), normal values were found in 12 patients (26.1%), and decreased levels were found in 26 patients (56.5%).

The distribution of patients according to the relative content of $CD25^+$ cells revealed increased levels in 11 patients (23.9%), normal values in 8 patients (17.4%), and decreased levels in 27 patients (58.7%).

The study of the Th1/Th2 cell ratio in patients with breast cancer after completing NAHT showed an increase in the ratio in 10 patients (21.7%), normal values in 12 patients (26.1%), and decreased values in 24 patients (52.2%).

Thus, the analysis of the dynamics of immune indicators in patients with breast cancer undergoing NAHT revealed a significant decrease in the relative content of immune-competent cells, which is attributed to the immunosuppressive effects of the chemotherapy being administered and its consequences.

ВИСНОВКИ

При проведенні неоад'ювантної поліхіміотерапії у хворих на РГЗ дослідження стану клітинного та гуморального імунітету дозволило встановити вірогідне зменшення відносного вмісту основних показників імунограми.

Зменшення відносного вмісту основних класів імунокомпенентних клітин потребує динамічного спостереження та корекції ускладнень, пов'язаних з імуносупресивними станами, які викликані хіміотерапевтичними засобами, що застосовуються при проведенні НАПХ.

Практичне використання даних показників може бути застосовано у діяльності хіміотерапевтів, онкологів та клінічних імунологів.

CONCLUSIONS

In patients with breast cancer undergoing neoadjuvant polychemotherapy, the study of the state of cellular and humoral immunity revealed a significant decrease in the relative content of key immune indicators.

The reduction in the relative content of major classes of immune-competent cells requires dynamic monitoring and correction of complications related to immunosuppressive conditions caused by the chemotherapeutic agents used during neoadjuvant chemotherapy.

The practical application of these indicators can be utilized in the clinical practice of oncologists, chemotherapy specialists and clinical immunologists.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Laversanne M., Colombet M., Mery L. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2024. URL: https://gco.iarc.who.int/today
2. Autier P., Boniol M. Mammography screening: A major issue in medicine. *European Journal of Cancer.* 2018. № 90. P. 34–62. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.11.002
3. Marian D., Fulop Z.Z., Fulop R.L., Molnar A.H., Scurtu A., Andercou O. Locally advanced breast cancer in Eastern European developing countries. *Annali Italiani di Chirurgia.* 2023. № 94. P. 346–350.

REFERENCES

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2024. URL: https://gco.iarc.who.int/today
2. Autier P, Boniol M. Mammography screening: A major issue in medicine. *European Journal of Cancer.* 2018;90:34–62. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.11.002
3. Marian D, Fulop ZZ, Fulop RL, Molnar AH, Scurtu A, Andercou O. Locally advanced breast cancer in Eastern European developing countries. *Annali Italiani di Chirurgia.* 2023;94:346–50.

4. SEER. Cancer of the Breast (Female) – Cancer Stat Facts. URL: https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html
5. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A. Cancer statistics, 2023. CA: A Cancer. *Journal for Clinicians*. 2023. № 73(1). P. 17–48. DOI: https://doi.org/10.3322/caac.21763
6. Центр громадського здоров'я України. МОЗ. 20 жовтня – Всеукраїнський день боротьби із захворюванням на рак молочної залози. URL: https://www.phc.org.ua/news/20-zhovtnya-vseukrainskiy-den-borotbi-iz-zakhvoryuvannyam-na-rak-molochnoi-zalozi-0
7. Houvenaeghel G., de Nonneville A., Cohen M., Sabiani L., Buttarelli M., Charaffe E. et al. Neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: Pathologic response rates but not tumor size, has an independent prognostic impact on survival. *Cancer Medicine.* 2024. № 13(3). e6930 p. DOI: https://doi.org/10.1002/cam4.6930
8. van Nijnatten T.J., Simons J.M., Moossdorff M., de Munck L., Lobbes M.B., van der Pol C.C. et al. Prognosis of residual axillary disease after neoadjuvant chemotherapy in clinically node-positive breast cancer patients: isolated tumor cells and micrometastases carry a better prognosis than macrometastases. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2017. № 163(1). P. 159–166. DOI: https://doi.org/10.1007/s10549-017-4157-0
9. Коноваленко В.Ф., Гаращенко О.О., Коноваленко С.В. Сучасні підходи до діагностики і лікування хворих на рак молочної залози. *Онкологія.* 2021. № 23(1–2). С. 1–9. DOI: https://doi.org/10.32471/oncology.2663-7928.t-23-1-2021-g.9320
10. Cheung K.L. Treatment strategies and survival outcomes in breast cancer. *Cancers (Basel).* 2020. № 12(3). 735 p. URL: https://www.mdpi.com/2072–6694/12/3/735/htm
11. Zarcos-Pedrinaci I., Redondo M., Louro J., Rivas-Ruiz F., Téllez T., Pérez D. et al. Impact of adjuvant chemotherapy on the survival of patients with breast cancer diagnosed by screening. *Cancer Medicine.* 2019. № 8(15). P. 6662–6670. DOI: https://doi.org/10.1002/cam4.2488
12. Hennigs A., Riedel F., Marmé F., Sinn P., Lindel K., Gondos A. et al. Changes in chemotherapy usage and outcome of early breast cancer patients in the last decade. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2016. № 160(3). P. 491–499. DOI: https://doi.org/10.1007/s10549-016-4016-4
13. Haidinger R., Bauerfeind I. Long-term side effects of adjuvant therapy in primary breast cancer patients: results of a webbased survey. *Breast Care (Basel).* 2019. Vol. 14 (2). P. 111–116. DOI: https://doi.org/10.1159/000497233
14. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005#Text
15. Чоп'як В.В., Потьомкіна Г.О., Гаврилюк А.М. Клінічна імунологія та алергологія: навчальний посібник (ВНЗ III–IV р.а.). К.: ВСВ «Медицина». 2017. 224 с.
16. Клінічна та лабораторна імунологія. Під заг. ред. Бабаджана В.Д. Підручник для здобувачів вищої медичної освіти, магістрів технології медичної діагностики та лікування, лікарів, які проходять цикли підвищення кваліфікації у ВМЗ (факультетах) IV рівня акредитації та ВМЗ післядипломної освіти. Харків. МЕДПРИНТ. 2022. Том 2. 600 с.

4. SEER. Cancer of the Breast (Female) – Cancer Stat Facts. URL: https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html
5. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. CA: A Cancer. *Journal for Clinicians*. 2023;73(1):17–48. DOI: https://doi.org/10.3322/caac.21763
6. Center for Public Health of Ukraine. Ministry of Health. October 20 – All-Ukrainian Day of Combating Breast Cancer. (In Ukrainian). URL: https://www.phc.org.ua/news/20-zhovtnya-vseukrainskiy-den-borotbi-iz-zakhvoryuvannyam-na-rak-molochnoi-zalozi-0
7. Houvenaeghel G, de Nonneville A, Cohen M, Sabiani L, Buttarelli M, Charaffe E et al. Neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: Pathologic response rates but not tumor size, has an independent prognostic impact on survival. *Cancer Medicine.* 2024;13(3):e6930. DOI: https://doi.org/10.1002/cam4.6930
8. van Nijnatten TJ, Simons JM, Moossdorff M, de Munck L, Lobbes MB, van der Pol CC et al. Prognosis of residual axillary disease after neoadjuvant chemotherapy in clinically node-positive breast cancer patients: isolated tumor cells and micrometastases carry a better prognosis than macrometastases. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2017;163(1):159–66. DOI: https://doi.org/10.1007/s10549-017-4157-0
9. Konovalenko VF, Garashchenko OO, Konovalenko SV. Modern approaches to the diagnosis and treatment of patients with breast cancer. *Oncology*. 2021;23(1–2):1–9. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32471/oncology.2663-7928.t-23-1-2021-g.9320
10. Cheung KL. Treatment strategies and survival outcomes in breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12(3):735. URL: https://www.mdpi.com/2072–6694/12/3/735/htm
11. Zarcos-Pedrinaci I, Redondo M, Louro J, Rivas-Ruiz F, Téllez T, Pérez D et al. Impact of adjuvant chemotherapy on the survival of patients with breast cancer diagnosed by screening. *Cancer Medicine*. 2019;8(15):6662–70. DOI: https://doi.org/10.1002/cam4.2488
12. Hennigs A, Riedel F, Marmé F, Sinn P, Lindel K, Gondos A et al. Changes in chemotherapy usage and outcome of early breast cancer patients in the last decade. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2016;160(3):491–9. DOI: https://doi.org/10.1007/s10549-016-4016-4
13. Haidinger R, Bauerfeind I. Long-term side effects of adjuvant therapy in primary breast cancer patients: results of a webbased survey. *Breast Care (Basel).* 2019;14 (2):111–6. DOI: https://doi.org/10.1159/000497233
14. Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical Principles of Medical Research Involving Human Subjects». (In Ukrainian). URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005#Text
15. Chop'yak VV, Potemkina GO, Gavrylyuk AM. Clinical immunology and allergology: a textbook (Higher Education University III–IV academic year). Kyiv: VSV «Medicine». 2017:224. (In Ukrainian).
16. Clinical and laboratory immunology. Under the general editorship of Babadzhan V.D. Textbook for applicants for higher medical education, masters of medical diagnostics and treatment technology, doctors undergoing advanced training cycles in medical schools (faculties) of the IV level of accreditation and medical schools of postgraduate education. Kharkiv. MEDPRINT. 2022;2:600. (In Ukrainian).

Перспективи подальших досліджень

Порушення, асоційовані зі зміною імунного статусу хворих на РГЗ, при проведенні курсу неоад'ювантної поліхіміотерапії потребують подальшого вивчення для профілактики негативних наслідків та ускладнень, асоційованих з токсичною та імуносупресивною дією даної категорії препаратів. Тому дослідження щодо моніторингу показників імунограми та їх корекція для профілактики ускладнень на фоні поліхіміотерапії є вельми актуальними та перспективними.

Prospects for further research

Disorders associated with changes in the immune status of breast cancer patients undergoing neoadjuvant polychemotherapy require further study to prevent negative outcomes and complications associated with the toxic and immunosuppressive effects of this category of drugs. Therefore, research on monitoring immune profile indicators and their correction to prevent complications during ongoing therapy is highly relevant and promising.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously affirm the absence of any actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, or other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject of the provided materials or that sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.

Funding information

Financed by the state budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Отченаш Наталя Миколаївна – аспірантка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: nat.otchenash@gmail.com
моб.: +38 (050) 302-17-77
Внесок автора: *аналіз даних літератури, формулювання завдань роботи, проведення досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, написання статті.*

Потьомкін Михайло Юрійович – кандидат фізико-математичних наук, доцент, Математичний факультет Університету Каліфорнії у Ріверсайді, 900 University Ave, Ріверсайд, Каліфорнія, Сполучені Штати Америки, 92521;
e-mail: mykhailp@ucr.edu
моб.: +181-432-116-90
Внесок автора: *статистичний аналіз, дизайн дослідження.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Otchenash Natalya Mykolaivna – Postgraduate student of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the School of medicine, V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: nat.otchenash@gmail.com
tel.: +38 (050) 302-17-77
Author's contribution: *analysis of literature data, formulation of objectives of the study, conducting research, analysis of received data and their statistical processing.*

Potomkin Mykhailo Yuriyovych – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Associate Professor, Mathematics Department, University of California, Riverside, 900 University Ave, Riverside, California, United States of America, 92521;
e-mail: mykhailp@ucr.edu
tel.: +181-432-116-90
Author's contribution: *statictical analysis, research design.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 13.09.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 05.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 133–148
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):133–148 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-03
УДК: 616.72-018.3-002-003.8-008.9:612.397

CC BY
OPEN ACCESS

Роль перекисного окиснення ліпідів у патогенезі хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща

Голуб О.І., https://orcid.org/0009-0000-6239-7902, e-mail: o.golub.med@gmail.com
Чернуський В.Г., https://orcid.org/0000-0001-5657-9486, e-mail: chernusky@karazin.ua
Летяго Г.В., https://orcid.org/0000-0002-6327-1321, e-mail: letyago@karazin.ua
Павлікова К.В., https://orcid.org/0000-0002-1228-4915, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua

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

The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration

Golub O.I., https://orcid.org/0009-0000-6239-7902, e-mail: o.golub.med@gmail.com
Chernusky V.H., https://orcid.org/0000-0001-5657-9486, e-mail: chernusky@karazin.ua
Letiaho H.V., https://orcid.org/0000-0002-6327-1321, e-mail: letyago@karazin.ua
Pavlikova K.V., https://orcid.org/0000-0002-1228-4915, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua

V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

вторинний остеоартрит, перекисне окиснення ліпідів, дієнові кон'юганти, малоновий діальдегід, глутатіон, каталаза, ферменти антиоксидантного захисту.

Для кореспонденції:

Чернуський В'ячеслав Григорович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua

© *Голуб О.І., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Павлікова К.В., 2024.*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. На сучасному етапі розвитку проблеми патогенезу вторинного остеоартриту (ОА) вагоме значення надається продуктам перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та їх токсико-деструктивний вплив на клітинно-тканинні структури суглобового хряща. Крім того, мають місце зміни мембранних білків та поверхневих ліпідів, потенціалів клітин та міжклітинних зв'язків, які характеризують ранню фазу активації процесів ПОЛ залежно від стадії об'єму дегенерації клітинно-тканинних структур та прогресуванню хронічного млявопрогресуючого запалення суглобів та переключення на активацію кінцевих продуктів ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА), що приводить до розвитку аутоімунного комплексу у даного контингенту хворих.
Мета роботи – вивчити зміни ПОЛ в патогенезі хворих на вторинний ОА залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща.
Матеріали та методи. Дослідження проведено у 117 хворих віком від 19 до 45 років, які перебували на стаціонарному лікуванні у Artz Klinic (м. Харків) щодо вторинного ОА. Діагноз ОА встановлювався згідно з МКХ-Х. Усі хворі згідно з класифікацію Міжнародного товариства з вивчення ОА (OARSI) були поділені на 4 групи залежно від стадії ураження суглобового хряща об'єму (%) дегенеративних змін: стадія 1 (< 10%); стадія 2 (10–25%); стадія 3 (25–50%); стадія 4 (> 50%). Проведено спеціальні дослідження із визначенням рівнів первинних дієнових кон'югантів (ДК) і вторинних кінцевих продуктів реакції ПОЛ – малонового діальдегіду у плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині, а також ферментів антиоксидантного захисту: каталази, супероксиддисмутази; глутатіонзалежної антиоксидантної системи: глутатіона, глутатіонпероксидази, глутатіону-S-трансферази.
Результати та їх обговорення. Отримані дані підтвердили підвищення ПОЛ та зниження ферментів антиоксидантного захисту залежно від ступеня дегенерації суглобового хряща. Визначено підвищення первинних продуктів ПОЛ, а саме ДК у групах хворих з 1-ю та 2-ю стадією як в плазмі, еритроцитах, так і в синовіальній рідині, та їх подальше зниження в групах хворих із 3-ю і 4-ю стадією дегенеративного процесу в суглобовому хрящі на тлі зростання рівнів кінцевих (вторинних) продуктів, а саме МДА. Показані процеси запускають деструкцію клітинно-тканинних структур суглобового хряща. На цьому фоні прогресує депресія глутатіон-залежної антиоксидантної системи, особливо демонстративно в групах хворих 3-ю і 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща, переводячи хронічний запальний процес на аутоімунну основу та приводячи до апоптозу.
Висновки. У хворих на вторинний ОА визначалося підвищення первинних продуктів ПОЛ – ДК у групах хворих із 1-ю і 2-ю стадією та кінцевих продуктів

ПОЛ – МДА в групах із 3-ю і 4-ю стадією дегенеративного процесу в суглобовому хрящі, в плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині. На тлі підвищення рівня ПОЛ відбувається зрив системи ферментів антиоксидантного захисту, який наростає в групах від 2-ї до 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща, що призводить до прогресування хронічного запалення, посилення аутоімунного компонента та апоптозу клітин суглобового хряща.

Для цитування:

Голуб О.І., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Павлікова К.В. Роль перекисного окиснення ліпідів в патогенезі хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 133–148. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-03

Key words:

secondary osteoarthritis, lipid peroxidation, diene conjugates, malondialdehyde, glutathione, catalase, antioxidant defense enzymes.

For correspondence:

Chernusky Viacheslav Hryhorovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua

© *Golub O.I., Chernusky V.H., Letiaho H.V., Pavlikova K.V., 2024*

ABSTRACT

Background. At the current stage of development, the problem of the pathogenesis of secondary osteoarthritis (OA) is attributed to the products of lipid peroxidation (LPO) and their toxic-destructive effect on the cellular tissue structures of articular cartilage. In addition, there are changes in membrane proteins and surface lipids, cell potentials and intercellular connections that characterize the early phase of activation of LPO processes depending on the stage of the volume of cell-tissue degeneration structures and progression of chronic sluggishly progressing inflammation of the joints and switch to activation of the final products of POL – malondealdehyde, which leads to the development of an autoimmune complex in this contingent of patients.
Purpose – is to study the changes in LPO in the pathogenesis of patients with secondary OA depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration.
Materials and Methods. The study was conducted in 117 patients aged 19 to 45 years who were undergoing inpatient treatment at Artz Klinic (Kharkov) for secondary OA. The diagnosis of OA was established according to the IKX-X. All patients according to the classification of the International Society for the Study of OA (OARSI) were divided into 4 groups depending on the stage of damage to the articular cartilage volume (%) of degenerative changes: stage 1 (< 10%); stage 2 (10–25%); stage 3 (25–50%); stage 4 (> 50%). Special studies were conducted to determine the levels of: primary diene conjugates (DK) and secondary end products of the LPO reaction – malondialdehyde (MDA) in plasma, erythrocytes and synovial fluid, as well as enzymes of antioxidant protection: catalase, superoxide dismutase; glutathione-dependent antioxidant system: glutathione, glutathione peroxidase, glutathione – S-transferase.
Results. The obtained data confirmed an increase in LPO and a decrease in antioxidant defense enzymes depending on the degree of articular cartilage degeneration. An increase in primary lipid products, namely DK, was determined in groups of patients with stage 1 and 2 both in plasma, erythrocytes, and synovial fluid, and their subsequent decrease in groups of patients with stage 3 and 4 of the degenerative process in articular cartilage against the background of growth levels of final (secondary) products, namely MDA. The shown processes trigger the destruction of cellular tissue structures of articular cartilage. Against this background, depression of the glutathione-dependent antioxidant system progresses, especially demonstrably in groups of patients with stage 3 and 4 degeneration of articular cartilage, transferring the chronic inflammatory process to an autoimmune basis and apoptosis.
Conclusions. In patients with secondary OA, an increase in the primary products of LPO – DK was determined in the groups of patients with stage 1 and 2, and the end products of LPO – MDA in the groups with stage 3 and 4 of the degenerative process in articular cartilage in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid. Against the background of an increase in the level of lipids, there is a breakdown of the enzyme system of antioxidant protection, which increases in groups from 2 to 4 stage of articular cartilage degeneration, which leads to the progression of chronic inflammation, strengthening of the autoimmune component, and apoptosis of articular cartilage cells.

For citation:

Golub OI, Chernusky VH, Letiaho HV, Pavlikova KV. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):133–148. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-03

ВСТУП

Проблема вторинного остеоартриту (ОА) є однією із пріоритетних у захворюванні опорно-рухового апа-

INTRODUCTION

The problem of secondary osteoarthritis (OA) is one of the priority diseases of the musculoskeletal system

рату в сучасній медицині, оскільки ОА є не тільки частою патологією серед захворювань кістково-м'язової системи, а й займає одне з перших місць у структурі причин стійкої втрати працездатності [4].

Незважаючи на велику кількість робіт, присвячених вивченню механізмів розвитку ОА, досі багато питань патогенетичних механізмів захворювання залишаються до кінця не з'ясованими. В останні роки багато авторів звертають увагу на участь у розвитку ОА активації процесів перекисного окиснення ліпідів, що супроводжується розвитком окиснювального стресу [3, 5, 9]. Однак залишається невідомим, як впливають продукти перекисного окиснення ліпідів на клітинно-тканинні структури суглобового хряща залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща та порушення антиоксидантного захисту у даного контингенту хворих.

Перекисного окиснення ліпідів зазнають в першу чергу жирнокислотні залишки фосфоліпідів біологічних мембран. Матрикс мембран складають фосфоліпіди, які розташовуються у вигляді переривчастого подвійного шару, в якому їх полярні (іонні) «голови» спрямовані до водного середовища, тобто до поверхонь мембран, а неполярні «хвости» – всередину мембран, де середовище неполярне та гідрофобне. У такому оточенні фосфоліпідів «плавають» молекули інтегральних та периферичних білків. «Блукання» молекул мембранних білків відбувається в результаті як короткочасних, так і тривалих взаємодій; при цьому окремі білкові молекули розміщуються довільним чином. Клітинні мембрани відрізняються значною структурною та біохімічною різноманітністю. До їх складу входять різні ліпіди (фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, фосфатидилінозитол, сфінгомієлін, кардіоліцин, холестерин, тригліцериди та ін), від яких в основному залежать фізико-хімічні властивості мембран [6].

Так, холестерин, розташовуючись в особливих проміжках між ненасиченими жирними кислотами, забезпечує плинність мембрани, запобігає кристалізації її або переходу у гель. Дуже різноманітні полісахаридні залишки входять до складу глікопротеїдів на поверхні клітини. Особливої уваги заслуговує розміщення білків у клітинних мембранах, що надає значний вплив на перебіг реакцій, які каталізуються цими білками. Крім того, іноді від положення білка в мембрані залежить напрямок реакції, що відбувається. Це можуть бути білки-переносники, тобто ферменти, які, перебуваючи з одного боку мембрани під впливом конформаційних змін за рахунок контакту із субстратом, здійснюють активний транспорт субстрату через мембрану.

Слід підкреслити, що полярні «голови» фосфоліпідів неоднакові: одні містять фосфотидилхолін, другі – фосфадіетаноламін, треті – фосфатидилсерин. Очевидно, ці відмінності пов'язані з роллю цих молекул в активації мембранних ферментів причому, можливо, що білки, які «плавають» серед фосфоліпідів, підтримуються в певному положенні чимось на зразок «коміра», що складається з певних молекул фосфоліпідів, необхідних для функції ферментів [6].

До потужних факторів, що ушкоджують клітинні мембрани, відносяться вільні радикали, які викликають у клітині неконтрольовані реакції, що призводить до зміни конформації та величини молекул, і врешті-решт до порушення їх функції. Крім них, можуть пошкоджуватися також білки та вуглеводи.

in modern medicine, as it is not only a frequent pathology among diseases of the musculoskeletal system, but also occupies one of the first places in the structure of the causes of permanent disability [4].

Despite the large number of works devoted to the study of the mechanisms of the development of OA, many issues of the pathogenetic mechanisms of the disease remain to be fully elucidated. In recent years, a number of authors have drawn attention to the participation in the development of OA of the activation of lipid peroxidation processes, which is accompanied by the development of oxidative stress [3, 5, 9]. However, it remains unknown how the products of lipid peroxidation affect the cell-tissue structures of articular cartilage depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration and the violation of antioxidant protection in this contingent of patients.

Fatty acid residues of phospholipids of biological membranes undergo lipid peroxidation in the first place. The matrix of membranes consists of phospholipids, which are arranged in the form of a discontinuous double layer, in which their polar (ionic) «heads» are directed towards the aqueous medium, i.e., to the surfaces of the membranes, and their non-polar «tails» – inside the membranes, where the environment is non-polar and hydrophobic. In this environment of phospholipids, molecules of integral and peripheral proteins «float». «Wandering» of membrane protein molecules occurs as a result of both short-term and long-term interactions; at the same time, individual protein molecules are placed arbitrarily. Cell membranes differ in significant structural and biochemical diversity. They include various lipids (phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, phosphatidylinositol, sphingomyelin, cardiolysin, cholesterol, triglycerides, etc.), on which the physicochemical properties of membranes mainly depend [6].

Thus, cholesterol, located in special spaces between unsaturated fatty acids, ensures fluidity of the membrane, prevents its crystallization or transition into a gel. Very diverse polysaccharide residues that are part of glycoproteins on the cell surface. The location of proteins in cell membranes deserves special attention, which has a significant impact on the course of reactions catalyzed by these proteins. In addition, sometimes the direction of the reaction that occurs depends on the position of the protein in the membrane. These can be proteins – carriers, that is, enzymes that, being on one side of the membrane, under the influence of conformational changes due to contact with the substrate, carry out active transport of the substrate through the membrane.

It should be emphasized that the polar «heads» of phospholipids are different: some contain phosphotidylcholine, others contain phosphadiethanolamine, and others contain phosphatidylserine. Obviously, these differences are related to the role of these molecules in the activation of membrane enzymes, and it is possible that proteins «floating» among phospholipids are supported in a certain position by something like a «collar», consisting of certain phospholipid molecules necessary for the function enzymes [6].

Powerful factors that damage cell membranes include free radicals, which cause uncontrolled reactions in the cell, consisting in changing the conformation and size of molecules, which leads to a violation of their function. In addition to them, proteins and carbohydrates can also be damaged. Radicals OH•, H•

Радикали ОН•, Н• і НОО• утворюються з води під дією різних факторів (випромінювання, канцерогени, інтоксикації і т.ін.). Основними джерелами вільних радикалів в організм є кисень, який замість форми О=О може набувати форми радикалу О•–О•, причому в патології мембран велике значення має його розчинність. У неполярному середовищі, яким у клітині є лише мембрана, кисень розчиняється в 7–8 разів краще, ніж у полярній, тому саме в мембранах найчастіше спостерігається окисне пошкодження поліненасичених жирних кислот, викликаючи ланцюжок реакцій, що змінюють структуру, а потім і функцію мембран. Ці реакції називають перекисним окисненням ліпідів [6].

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) безперервно вдбувається в нормі у всіх тканинах живих організмів і при низькій інтенсивності є одним із типів нормальних метаболічних процесів. ПОЛ – життєво важлива ланка в регуляції ліпідного складу біомембран і мембраноутримуючих ферментів, бере участь в реакціях окиснювального фосфорилювання, в регуляції проникності транспорту речовин через мембрану, в синтезі простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксанів, простациклінів швидкості клітинного поділу, у фагоцитозі [7].

Зокрема, малоновий діальдегід (MDA) викликає полімеризацію компонентів мембран еритроцитів, знижуючи деформованість клітин та несприятливо відбивається на їх функціональній активності та життєдіяльності [10]. Встановлено, що ПОЛ змінює структуру ліпопротеїдів плазми крові, які є основною транспортною формою циркулюючих ліпідів низької та високої щільності, та беруть участь в оновленні та формуванні ліпідного спектра мембран еритроцитів. Останні не мають власного синтезу білків і ліпідів, визначають вироблення цитокінів з прозапальними властивостями Т-лімфоцитами, регулюють їх цитотоксичність щодо клітин-мішеней суглобового хряща та синовіальної оболонки, стимулюючи реакції гіперчутливості уповільненого типу та апоптозу клітин.

Процесу запуску та розвитку ПОЛ в організмі протидіє система захисту від вільнорадикальної деградації ліпідної фази мембран та ліпопротеїнів. Антиоксиданти за механізмом дії розподіляються на ферментативні та неферментативні, що взаємодіють з радикалами, елімінуючи їх із системи [14].

До ферментативної системи захисту відносяться супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (ГП) та каталаза. СОД захоплює гідроксильний радикал (•ОН), оберігаючи клітину від найбільш токсичного впливу. Глутатіонпероксидаза відновлює перекис водню та ліпоперекису без утворення вільних радикалів, і тим самим обриває ланцюговий характер реакції. Каталаза руйнує перекис водню, що утворюється при дисмутації супероксидного аніону та при аеробному окисненні відновлених флавопротеїнів. Ці ферменти перешкоджають надмірному накопиченню в організмі людини активних форм кисню та розвитку патологічної активації вільнорадикального окиснення ліпідів [11, 12].

Внаслідок неферментативного шляху ПОЛ перекиси надають неспецифічний вплив на метаболізм клітини. Однією з причин дефіциту неферментативних антиоксидантів (α-токоферолу, акорбату, вітаміну С, CoQ10) є їх підвищена витрата.

Мета роботи – вивчити зміни ПОЛ у патогенезі хворих на вторинний ОА залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща.

and NOO• are formed from water under the influence of various factors (radiation, carcinogens, intoxication, etc.). The main sources of free radicals in the body are oxygen, which instead of the O=O form can take the form of the O•–O• radical, and its solubility is of great importance in the pathology of membranes. In a non-polar environment, which is only a membrane in the cell, oxygen dissolves 7–8 times better than in a polar environment, so it is in the membranes that oxidative damage to polyunsaturated fatty acids is most often observed, causing a chain of reactions that change the structure and then the function of the membranes. These reactions are called lipid peroxidation [6].

Lipid peroxidation (LPO) occurs continuously normally in all tissues of living organisms and at low intensity is one of the types of normal metabolic processes. POL is a vital link in the regulation of the lipid composition of biomembranes and membrane-retaining enzymes, participates in oxidative phosphorylation reactions, in the regulation of the permeability of the transport of substances through the membrane, in the synthesis of prostaglandins, leukotrienes, thromboxanes, prostacyclins, the rate of cell division, and in phagocytosis [7].

In particular, malondialdehyde (MDA) causes polymerization of erythrocyte membrane components, reducing cell deformability and adversely affecting their functional activity and vital activity [10]. It was established that LPO changes the structure of blood plasma lipoproteins, which are the main transport form of circulating lipids of low and high density and participate in the renewal and formation of the lipid spectrum of erythrocyte membranes. They lack the ability to synthesize their own proteins and lipids and dictate the production of proinflammatory cytokines by T-lymphocytes. They also regulate these cells' cytotoxicity toward the target cells of articular cartilage and the synovial membrane, stimulating delayed-type hypersensitivity reactions and cell apoptosis.

The initiation and development of lipid peroxidation (LPO) in the body is counteracted by a defense system against free radical degradation of the lipid phase of membranes and lipoproteins. Antioxidants, according to their mechanism of action, are classified as either enzymatic or nonenzymatic; both types interact with radicals, eliminating them from the system [14].

The enzymatic defense system includes superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP), and catalase. SOD sequesters the hydroxyl radical (•OH), protecting the cell from its most toxic effects. Glutathione peroxidase reduces hydrogen peroxide and lipid peroxide without generating free radicals, thereby interrupting the chain reaction. Catalase decomposes hydrogen peroxide produced during the dismutation of the superoxide anion and during the aerobic oxidation of reduced flavoproteins. These enzymes prevent the excessive accumulation of reactive oxygen species in the human body and the pathological activation of free radical lipid oxidation [11, 12].

As a result of the nonenzymatic pathway of LPO, peroxides exert a nonspecific effect on cell metabolism. One of the causes of a deficiency in nonenzymatic antioxidants (α-tocopherol, ascorbate, vitamin C, CoQ10) is their increased consumption.

Objective – to study the changes in LPO in the pathogenesis of patients with secondary OA depending on the stage of the volume of degeneration of the articular cartilage.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні взяли участь 117 хворих віком від 19 до 45 років, які перебували на лікуванні у Artz Klinic (м. Харків) з приводу вторинного остеартриту колінного суглоба як в періоді загострення, так і ремісії. Діагноз встановлювали згідно з Міжнародною класифікацією хвороби 10-го перегляду (МКХ-10) – М18.1. Контрольну групу склали 25 здорових добровольців. Для визначення стадії ураження суглобового хряща від об'єму дегенеративних змін, використовували класифікацію Міжнародного товариства з вивчення остеартриту (OARSI). Виділено 4 стадії: 1 – < 10%; 2 – 10–25%; 3 – 25–50%; 4 – > 50%.

Оцінку ПОЛ здійснювали шляхом визначення у плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині первинних дієнових кон'югатів (ДК) та вторинних кінцевих продуктів реакції ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА). Вміст ДК визначали спектрофотометрично різницею оптичної щільності між дослідною і контрольною пробами при довжині хвилі 232 нм. Визначення МДА проводили реакцією з тіобарбітуровою кислотою [1, 2].

Стан антиоксидантного захисту визначали за активністю ферментів. Активність каталази – спектрофотометрично при довжині хвилі 410 нм згідно з описаним методом, заснованим на здатності перекису водню утворювати із солями молібдену стійкий забарвлений комплекс; супероксиддисмутази – методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-систем фірми «Bender MedSystems» (Австрія). Глутатіон-залежну антиоксидантну систему в плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині вивчали: визначення глутатіону (GSH) за кольоровою реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (реагент Еллімана) з утворенням сполуки, яка має максимум поглинання при 412 нм. Активність глутатіонпероксидази (ГОН) визначали за швидкістю окиснення відновленого глутатіону у присутності гідроперекису третинного бутилу. Активність глутатіон-S-трансферази (ГST) визначали за швидкістю реакції ферментативного утворення GS-2,4-динітробензолу в реакції відновленого глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом [1, 2].

Кров для біохімічних та імунологічних досліджень брали вранці, наступного дня після надходження хворого до стаціонару, через 12–18 годин після їжі. Забір проводили з ліктьової вени селіконированою голкою, в об'ємі 5 мл у стерильну пробірку типу «Епендорф».

Сатистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням IBM SPSS Statistics 22 із визначенням абсолютної величини та її похибки (M ± m, абс.од.). Достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Стьюдента.

Пацієнти були інформовані щодо цілей дослідження та надавали свою поінформовану згоду. Дослідження проведено з урахуванням основних положень і відповідно етичним та морально-правовим вимогам Статусу Української асоціації з біоетики та нормам GCP і GLP, принципам Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини.

MATERIALS AND METHODS

A study was conducted in 117 patients aged 19 to 45 who were being treated at the Artz Klinic in Kharkiv regarding secondary osteoarthritis of the knee joint both in the period of exacerbation and remission. The diagnosis was established according to the International Classification of Diseases of the 10th revision (ICD-10) – M18.1. The control group consisted of 25 healthy volunteers. The classification of the International Society for the Study of Osteoarthritis (OARSI) was used to determine the stage of articular cartilage damage from the volume of degenerative changes. There are 4 stages: 1 – < 10%; 2 – 10–25%; 3 – 25–50%; 4 – > 50%.

Lipid peroxidation (LPO) processes were evaluated by determining primary diene conjugates (DK) and secondary end products of the LPO-malondialdehyde (MDA) reaction in plasma, erythrocytes, and synovial fluid. The content (DC) was determined spectrophotometrically by the difference in optical density between the experimental and control samples at a wavelength of 232 nm. Determination of malondialdehyde (MDA) was carried out by reactions with thiobarbituric acid [1, 2].

The state of antioxidant protection was judged by the activity of enzymes: catalase was performed spectrophotometrically at a wavelength of 410 nm according to the described method based on the ability of hydrogen peroxide to form a stable colored complex with molybdenum salts [1, 2]. Superoxide dismutase was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using test systems from Bender MedSystems (Austria) [1, 2]. Glutathione – a dependent antioxidant system in plasma, erythrocytes and synovial fluid was studied: determination of glutathione (GSH) by color reaction with 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic) acid (Elliman's reagent) with the formation of a compound with an absorption maximum at 412 nm [1, 2]. The activity of glutathione peroxidase (GON) was determined by the rate of oxidation of reduced glutathione in the presence of tertiary butyl hydroperoxide. The activity of glutathione-S-transferase (GST) was determined by the reaction rate of the enzymatic formation of GS-2,4-dinitrobenzene and the reaction of reduced glutathione with 1-chloro-2,4-dinitrobenzene [1, 2].

Blood for biochemical and immunological studies was taken in the morning, the next day after the patient was admitted to the hospital, 12–18 hours after eating. Sampling was carried out from the ulnar vein with a siliconized needle, in a volume of 5 ml into a sterile Eppendorf tube.

Statistical processing of the obtained results was carried out using IBM SPSS Statistics 22 with the determination of the absolute value and its error (M ± m, absolute units). The reliability of the obtained results was determined according to the Student's criterion.

Patients were informed about the objectives of the study and gave their informed consent. The study was conducted taking into account the main provisions and in accordance with the ethical and moral and legal requirements of the Status of the Ukrainian Bioethics Association and GCP and GLP norms, the principles of the Helsinki Declaration of Human Rights, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень показали, що у хворих на вторинний ОА відбуваються суттєві порушення метаболізму ліпідів як у плазмі крові, в еритроцитах, так і в синовіальній рідині. Вибір еритроцитів, як одного з об'єктів дослідження при вторинному ОА, зумовлений їх роллю в адсорбції біологічно активних речовин, регуляції інтенсивності запальної реакції в гасінні ПОЛ, стабілізації лізосомальних мембран завдяки наявності в них цитоплазматичних антиоксидантів (виділення при гемолізі глутатіону, пероксидази, каталази, розчиненого гемоглобіну, СОД та інш.). Встановлено, що в періоді загострення у хворих на вторинний ОА відбувається достовірна активація ПОЛ на рівні клітинних мембран за показником первинних продуктів у вигляді дієнових кон'югатів.

Як видно з даних таблиці 1 у групі хворих 1-ї та 2-ї стадії дегенерації суглобового хряща відзначається підвищення рівня первинних продуктів ПОЛ дієнових кон'югатів у плазмі крові у 4,1–4,6 разу, порівняно з показниками у групі здорових донорів. У групах хворих з наростанням ступеня дегенерації суглобового хряща 3-ї та 4-ї стадії відзначається зниження рівня ДК у плазмі крові у 2,1–2,6 разу, порівняно з показниками у групі здорових донорів, та у 2,2 разу порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

RESULTS AND DISCUSSION

Research results showed that patients with secondary OA have significant lipid metabolism disorders in blood plasma, erythrocytes, and synovial fluid. The choice of erythrocytes as one of the objects of research in secondary OA is due to their role in the adsorption of biologically active substances, regulation of the intensity of the inflammatory reaction in extinguishing POL, stabilization of lysosomal membranes due to the presence of cytoplasmic antioxidants in them (the release of glutathione, peroxidase, catalase, dissolved hemoglobin during hemolysis, SOD, etc.). It was established that in the period of exacerbation in patients with secondary OA, there is a reliable activation of LPO at the level of cell membranes according to the indicator of primary products in the form of diene conjugates (DC).

As can be seen from the data in the table 1, in the group of patients with stage 1 and stage 2 degeneration of articular cartilage, there is an increase in the level of primary LPO products of diene conjugates (DC) in the blood plasma by 4.1–4.6 times compared to the indicators in the group of healthy donors. In the groups of patients with an increasing degree of articular cartilage degeneration of stages 3 and 4, a decrease in the level of DC in the blood plasma was noted by 2.1–2.6 times compared to the indicators in the group of healthy donors and by 2.2 times compared to the group of patients with stages 1 and 4 of degeneration articular cartilage.

Таблиця 1. Вміст дієнових кон'югатів у плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща, (M ± m)
Table 1. The content of diene conjugates in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration, (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, мкмоль/мл Blood plasma, μmol/ml	Еритроцити, мкмоль/л Erythrocytes, μmol/l	Синовіальна рідина, ммоль/л Synovial fluid, mmol/l
Стадія 1/ Stage 1 (<10%)	23	35,2±0,62*α	41,5±0,75*α	27,9±1,12*α
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	31,7±0,84*α	38,9±0,62*α	24,4±0,98*α
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	19,6±0,86*	25,6±0,76*	16,9±0,53*
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	15,8±0,54*α	19,2±0,37α	12,1±0,48α
Здорові донори Healthy donors	25	7,5±0,63	12,6±0,34	8,4±0,52

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно зі здоровими донорами (p < 0,001);
α – відмінності достовірні між показниками у групах з 1-ю і 2-ю стадією з 4-ю стадією (p < 0,01).

Notes:
* reliability differences compared to healthy donors (p < 0.001);
α – significant differences between indicators in groups 1 and 2 stage with stage 4 (p < 0.01).

В еритроцитах відзначається підвищення ДК у 3,0–3,2 разу у групах хворих з 1-ю та 2-ю стадією та у 1,5–2 разу у групах з 3-ю та 4-ю стадією, порівняно з показниками здорових донорів, та у 2,2 разу – порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

У синовіальній рідині, яка являє собою діалізат плазми крові, має місце підвищення ДК у групі хворих з 1-ю та 2-ю стадією у 2,8–3,3 разу, у порівнянні з показниками групи здорових донорів, та у 1,4–2,0 разу у групі хворих з 3-ю та 4-ю стадією дегенерації

In erythrocytes, there is a 3.0–3.2 times increase in DC in the groups of patients with stage 1 and 2 and by 1.5–2 times in groups with stages 3 and 4 compared to the indicators of healthy donors and by 2.2 times compared to the group of patients 1 and 4 stages of articular cartilage degeneration.

In the synovial fluid, which is a dialysate of blood plasma, there is an increase in DC in the group of patients 1 and 2 stage by 2.8–3.3 times compared to the indicators of the group of healthy donors and by 1.4–2.0 times in the group of patients 3 and stage 4

суглобового хряща, та у 2,3 разу порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії.

Як видно з отриманих даних у групах хворих з наростанням ступеня дегенерації суглобового хряща з 3-ю і 4-ю стадією відзначається зниження первинних продуктів ДК, що можливо пов'язане з посиленням процесів дегенерації клітинно-тканинних структур суглобового хряща, виснаженням первинних продуктів ДК і перемиканням патологічного процесу на кінцеві продукти, кон'югати поліненасичених жирних кислот, діальдегідів, що відносяться до вторинних продуктів ПОЛ – малоновий діальдегід (табл. 2).

of articular cartilage degeneration and 2.3 times compared to the group of patients stage 1 and stage 4.

As can be seen from the obtained data, in the groups of patients with an increasing degree of degeneration of articular cartilage stage 3 and 4, there is a decrease in the primary products of DK, which is apparently connected with the strengthening of the processes of degeneration of cellular tissue structures of articular cartilage, the depletion of primary products of DK and the switching of the pathological process to the end products of con jugates of polyunsaturated fatty acids, dialdehydes, which belong to the secondary products of POL-malon dialdehyde (MDA) tabl. 2.

Таблиця 2. Вміст малонового діальдегіду у плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща, (M ± m)
Table 2. The content of malondialdehyde in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of the amount of articular cartilage degeneration, (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, мкмоль/мл Blood plasma, μmol/ml	Еритроцити, мкмоль/л Erythrocytes, μmol/l	Синовіальна рідина, ммоль/л Synovial fluid, mmol/l
Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	23	11,3±0,54$^{\alpha}$	19,5±0,63$^{\alpha}$	4,6±0,48*$^{\alpha}$
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	16,3±0,87*	34,6±0,82*	8,3±0,58*
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	19,8±1,12*	39,4±0,58*	11,4±0,62*
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	24,5±1,16*$^{\alpha}$	43,2±0,46*$^{\alpha}$	14,3±0,74*$^{\alpha}$
Здорові донори Healthy donors	25	6,12±0,56	14,2±0,49	2,3±0,38

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно зі здоровими донорами ($p < 0,001$);
α – відмінності достовірні між показниками у групах з 1-ю і 2-ю стадією з 4-ю стадією ($p < 0,01$).

Notes:
* reliability differences compared to healthy donors ($p < 0.001$);
α – significant differences between indicators in groups 1 and 2 stage with stage 4 ($p < 0.01$).

При наростанні ступеня дегенерації суглобового хряща у хворих на вторинний ОА має місце підвищення МДА в плазмі крові в групі хворих з 1-ю та 2-ю стадією в 1,8–2,6 разу, і в 3,2–4,0 разу в групі хворих з 3-ю і 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща щодо показників групи здорових донорів.

В еритроцитах хворих на вторинний ОА відзначається підвищення МДА у хворих на 1-шу та 2-гу стадію в 1,4–2,4 разу та 2,7–3,0 разу у хворих у групах з 3-ю та 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща, порівняно з показниками групи здорових донорів .

У синовіальній рідині відзначається підвищення МДА у групі хворих з 1-ю та 2-ю стадією у 2,0–3,5 разу а у групі хворих з 3-ю та 4-ю стадією у 4,9–6,1 разу, достовірно ($p < 0,05$) відрізняючись від групи здорових донорів.

Отримані дані показали, що у хворих на вторинний ОА з 3-ю і 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща достовірно ($p < 0,05$) підвищений рівень МДА в плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині відносно групи хворих з 1-ю і 2-ю стадією і здорових донорів, що вказує на посилення деструктивнихі процесів клітинно-тканинних структур суглобового хряща і синовіальної оболонки. Особливістю МДА є його можливість утворювати різні аддукти, такі як МДА-лізин та МДА-гліцин, а аддукт білка МДА-ацетальдегід посилює аутоімунний компонент захворювання за

As the degree of articular cartilage degeneration increases in patients with secondary OA, there is an increase in MDA in the blood plasma in the group of patients with stage 1 and 2 by 1.8–2.6 times and by 3.2–4.0 times in the group of patients with stage 3 and 4 degeneration of articular cartilage in relation to the indicators of the group of healthy donors.

In erythrocytes of patients with secondary OA, there is an increase in MDA in patients with stage 1 and 2 by 1.4–2.4 times and by 2.7–3.0 times in patients with stage 3 and stage 4 of articular cartilage degeneration compared to the indicators of the healthy group donors.

In the synovial fluid, there was an increase in MDA in the group of patients of the 1st and 2nd degree by 2.0–3.5 times, and in the group of patients of the 3rd and 4th degree by 4.9–6.1 times, significantly ($p < 0.05$) differing from the group healthy donors.

The obtained data showed that in patients with secondary OA with 3 and 4 degrees of articular cartilage degeneration, the level of MDA in plasma, erythrocytes, and synovial fluid was significantly ($p < 0.05$) higher than in the group of patients with 1 and 2 degrees and healthy donors, which indicates on destructive processes of cell-tissue structures of articular cartilage and synovial membrane, which intensify. A feature of MDA is its ability to react by forming various adducts, such as MDA-lysine and MDA-glycine, and the MDA-acetaldehyde protein

рахунок вироблення аутоантитіл як на кінцеві продукти окиснення ліпідів, так і на секвестровані клітинно-тканинні компоненти суглобового хряща.

У групах хворих на вторинний ОА з 3-ю і 4-ю стадію дегенерації суглобового хряща інтенсифікація процесів ПОЛ може бути викликана низкою причин:

1) посиленням активності ферментів, відповідальних за утворення перекисів ліпідів;

2) збільшенням кількості ініціаторів ПОЛ;

3) зниженням активності антиоксидантних ферментів «захисту», які руйнують або запобігають утворенню ПОЛ.

Слід зазначити, яка б не була причина посилення ПОЛ, зміна швидкості окиснення ліпідів перебуває у тісному взаємозв'язку зі зниженням концентрації біоантиоксидантів. Така ситуація призводить до зміни складу ліпідів клітинних мембран, зменшення плинності ліпідної фази мембрани, яка стає жорсткішою. В результаті зниження активності мембранних ферментів, ефекторами яких є ліпіди, що легко окиснюються (фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, фосфатидилінозит), змінюється чутливість клітин суглобового хряща до дії сигнальних речовин гормональної та нервової регуляції, створюючи умови виходу клітин в апоптоз [9, 10, 14].

Тому наступним етапом дослідження стало визначення антиоксидантних ферментів у групах хворих на вторинний ОА в періоді загострення.

До ферментів антиоксидантного захисту належить каталаза – фермент, що локалізується в пероксисомах клітин, зокрема і суглобового хряща. Найбільша концентрація каталази виявлена в еритроцитах. Каталаза належить до ферментів, які тривалий період часу зберігають свою високу активність, здатні розкладати перекис водню на воду та кисень ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O+O_2$) без утворення вільних радикалів. Каталаза здатна інгібувати ліпоперекиси та запобігати первинним токсичним впливам вільних радикалів на клітинно-тканинні структури суглобового хряща.

Як видно з даних таблиці 3 має місце зниження каталази в плазмі крові у групі хворих з 1-ю та 2-ю стадією у 1,3–1,6 разу щодо здорових донорів, а у групах з 3-ю та 4-ю стадією у 2,1–3,7 разу щодо рівня показників групи здорових донорів. В еритроцитах хворих на вторинний ОА відзначається депресія ферменту каталази в групах з 1-ю і 2-ю стадією в 1,2–1,3 разу, в групах з 3-ю і 4-ю стадією в 2,0–2,7 разу щодо рівня показників групи здорових донорів. У синовіальній рідині, яка апріорі аналогічна плазмі крові, більш демонстративне зниження каталази спостерігається в групах хворих 3-ї і 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща в 4,4–8,8 разу, достовірно ($p < 0,05$) відрізняючись показниками в групах з 1-ю і 2-ю стадією в 1,5–2,5 разу та рівня показників групи здорових донорів, що вказує на зниження антиоксидантного захисту суглобового хряща, посилюючи апоптоз клітинно-тканинних структур хондроцитів та індукцію TNF-α ефекторними клітинами в синовіальній рідині.

Потужним тканинним антиоксидантним ферментом є супероксиддисмутаза (COD), яка регулює рівень супероксидних аніонів O_2^- клітин та їх аеробний цикл життєдіяльності. У лізосомах гранулоцитів є фермент HAD, HAD-Ф-оксидаза, яка активується в процесі фагоцитозу та каталізує процес відновлення молекулярного кисню з утворенням кисню з непарним електроном (O^-). Внутрішньоклітинний фермент

adduct enhances the autoimmune component of the disease, due to the production of autoantibodies both to the end products of lipid oxidation and to sequestered cellular and tissue com-ponents articular cartilage.

In groups of patients with secondary OA 3 and 4 stage of articular cartilage degeneration, the intensification of LPO processes can be caused by a number of reasons:

1) increased activity of enzymes responsible for the formation of lipid peroxides;

2) by increasing the number of initiators of POL;

3) a decrease in the activity of antioxidant «defense» enzymes that destroy or prevent the formation of lipids.

It should be noted that whatever the reason for the increase in LPO, the change in the rate of lipid oxidation is closely related to the decrease in the concentration of bioantioxidants. This situation leads to a change in the lipid composition of cell membranes, a decrease in the fluidity of the lipid phase of the membrane, which becomes stiffer. As a result of a decrease in the activity of membrane enzymes, the effectors of which are easily oxidizing lipids (phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, phosphatidylinositol), the sensitivity of articular cartilage cells to the action of signaling substances of hormonal and nervous regulation changes, creating conditions for cells to undergo apoptosis [9, 10, 14].

Therefore, the next stage of the study was the determination of antioxidant enzymes in groups of patients with secondary OA during the exacerbation period.

Enzymes of antioxidant protection include catalase, an enzyme localized in peroxisomes of cells, including articular cartilage. The highest concentration of catalase was found in erythrocytes. Catalase refers to enzymes that retain their high activity for a long period of time, capable of breaking down hydrogen peroxide into water and oxygen ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O+O_2$) without the formation of free radicals. Catalase is capable of inhibiting lipoperoxides and preventing the primary toxic effects of free radicals on cellular and tissue structures of articular cartilage.

As can be seen from the data in the table 3 there is a decrease in catalase in the blood plasma in the group of patients 1 and 2 stage by 1.3–1.6 times compared to healthy donors, and in groups 3 and 4 by stage 2.1–3.7 times compared to the level of indicators of the group of healthy donors. In erythrocytes of patients with secondary OA, depression of the catalase enzyme is noted in groups 1 and 2 stage 1.2–1.3 times, in groups 3 and 4 stage 2.0–2.7 times compared to the level of indicators of the group of healthy donors. In synovial fluid, which a priori is similar to blood plasma, a more demonstrative decrease in catalase is observed in groups of patients with stage 3 and 4 of articular cartilage degeneration by 4.4–8.8 times reliably ($p < 0.05$), differing in indicators in groups 1 and 2 by stage in 1.5–2.5 times and the level of indicators of the group of healthy donors, which indicates a decrease in the antioxidant protection of articular cartilage, increasing apoptosis of cell-tissue structures of chondrocytes and induction of TNF-α by effector cells in synovial fluid.

A powerful tissue antioxidant enzyme is superoxide dismutase (COD), which regulates the level of superoxide anions O_2^- in cells and their aerobic life cycle. In the lysosomes of granulocytes, there is an enzyme NAD, NAD-F-oxidase, which is activated in the process of phagocytosis and catalyzes the process of reducing molecular oxygen with the formation of oxygen with an unpaired electron (O^-). The intracellular enzyme

супероксиддисмутаза зв'язує цей кисень з воднем і при цьому утворюється перекис водню (H_2O_2), який потім розщеплюється каталазою та глутатіонпероксидазою з утворенням гідроксидного (HO^-) та гідропероксидного HO_2^- радикалів, які інактивують глутатіон [11, 12, 14].

У хворих на вторинний ОА в періоді загострення відзначається зниження рівня COD у плазмі крові, у групі хворих 1-ї та 2-ї стадії у 1,4–1,9 разу, а у групі хворих 3-ї та 4-ї стадії – 3,8–6,6 разу, достовірно ($p < 0,05$) відрізняючись від показників рівня групи здорових донорів, та в 4,7 разу – порівняно з групою хворих та стадією дегенерації суглобового хряща (табл. 4).

superoxide dismutase (COD) binds this oxygen to hydrogen and hydrogen peroxide (H_2O_2) is formed, which is then cleaved by catalase and glutathione peroxidase with the formation of hydroxide (HO^-) and hydroperoxide HO_2^- radicals, which inactivate glutathione [11, 12, 14].

In patients with secondary OA in the period of exacerbation, a decrease in the level of COD in the blood plasma was observed in the group of patients of the 1st and 2nd stages by 1.4–1.9 times, and in the group of patients of the 3rd and 4th stages by 3.8–6.6 times reliably ($p < 0.05$) differing from the indicators of the level of the group of healthy donors and 4.7 times compared to the group of patients and the stage of articular cartilage degeneration (table 4).

Таблиця 3. Вміст каталази у плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща, (M ± m)
Table 3. Catalase content in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration, (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, мкмоль/мл Blood plasma, mccatal/l	Еритроцити, мкмоль/л Erythrocytes, mg mmol/l	Синовіальна рідина, ммоль/л Synovial fluid, mccatal/l
Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	23	19,6±0,67$^{\alpha}$	53,2±2,14$^{\alpha}$	5,8±0,43$^{\alpha}$
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	16,5±0,48$^{\alpha}$	48,8±1,16$^{\alpha}$	3,4±0,39*$^{\alpha}$
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	12,3±0,52*	33,1±1,23*	1,9±0,28*
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	7,2±0,39*$^{\alpha}$	24,1±1,12*$^{\alpha}$	0,9±0,07*$^{\alpha}$
Здорові донори Healthy donors	25	26,6±0,58	66,3±0,68	8,6±2,43

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно зі здоровими донорами ($p < 0,001$);
α – відмінності достовірні між показниками у групах з 1-ю і 2-ю стадією з 4-ю стадією ($p < 0,01$).

Notes:
* reliability differences compared to healthy donors ($p < 0.001$);
α – significant differences between indicators in groups 1 and 2 stage with stage 4 ($p < 0.01$).

Таблиця 4. Вміст супероксиддисмутази у плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідини хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща, (M ± m)
Table 4. The content of superoxide dismutase in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration, (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, ум.од/мг білка Blood plasma, um.units/mg squirrel	Еритроцити, од/мг білка Erythrocytes, um.units/mg squirrel	Синовіальна рідина, мккатал/л Synovial fluid, mccatal/l
Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	23	8,8±0,92$^{\alpha}$	56,8±3,4$^{\alpha}$	4,2±0,76$^{\alpha}$#
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	6,3±0,84$^{\alpha\wedge}$	48,6±3,8	2,8±0,61$^{\alpha\wedge}$
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	3,2±0,68*$^{\alpha}$	35,4±2,3*	1,6±0,43*#
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	1,8±0,39*$^{\alpha\wedge}$	24,9±2,7*$^{\alpha}$	0,8±0,2*$^{\alpha\wedge}$
Здорові донори Healthy donors	25	12,4±0,58	62,8±2,4	6,5±2,5

Примітки:
* відмінності порівняно зі здоровими донорами ($p < 0,05$);
α – відмінності між показниками 1-ї, 2-ї та 4-ї стадіями дегенерації суглобового хряща ($p < 0,05$);
$\wedge$ – відмінності між показниками 2-ї та 4-ї стадіями дегенерації суглобового хряща ($p < 0,05$);
– відмінності між показниками 1-ї та 3-ї стадіями дегенерації суглобового хряща ($p < 0,05$).

Notes:
* differences compared to healthy donors ($p < 0.05$);
α – differences between indicators of 1, 2 and 4 stages of articular cartilage degeneration ($p < 0.05$);
$\wedge$ – differences between indicators of 2 and 4 stages of articular cartilage degeneration ($p < 0.05$);
– differences between indicators of 1 and 3 stages of articular cartilage degeneration ($p < 0.05$).

Рівень COD в еритроцитах у групах хворих з 1-ю та 2-ю стадії в періоді загострення знижений у 1,1–1,3 разу, а у групах з 3-ю та 4-ю стадією у 1,7–2,5 разу щодо показників групи здорових донорів, та у 2,3 разу – порівняно з групою з 1-ю та 4-ю стадією.

У синовіальній рідині рівень COD знижений у групі хворих із 1-ю та 2-ю стадією в 1,5–2,3 разу відносно групи здорових донорів, та демонстративно у групах хворих 3-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща у 4,0–7,3 разу, достовірно ($p < 0,05$) відрізняючись від рівня здорових донорів, та в 4,7 разу – порівняно з групою 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

Зниження COD у хворих на вторинний ОА у періоді загострення гальмує інгібування ліпідної пероксидації на стадії активації кисню та реакцію дисмутації активних форм кисню (АФК) у перекис водню, підсилюючи процеси дегенерації суглобового хряща. Підвищена продукція АФК призводить до розвитку окиснювального стресу, що посилює розвиток дегенеративно-дистрофічного процесу у суглобах. Найбільш важливою системою, що інгібує розвиток окисного стресу та розвиток дегенеративно-дистрофічних процесів у суглобах, є глутатіон-залежна антиоксидантна система. До неї входять: глутатіон (GSH), глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіон-S-трансфераза, глутатіон-редуктаза (GR), глутаредоксини (Grx) та пероксиредоксини (Prx). Дана антиоксидантна система підтримує клітинно-тканинний гомеостаз суглобового хряща та синовіальної оболонки, а її зниження посилює дегенеративно-дистрофічні процеси в суглобі, підвищуючи аутоімунний компонент у даного контингенту хворих [8, 13].

Глутатіон-трипептид (L-γ-глутаміл-L-цистеініл-гліцин) має антиоксидантні властивості, завдяки наявності залишку цистеїну GSH неферментативно легко окиснюється електрофільними сполуками АФК у глутатіон-дисульфід (GSSG). Як антиоксидант, глутатіон займає центральне місце в антирадикальному та антиперекисному захисті клітин суглобового хряща. GSH ефективно нейтралізує вільні радикали (гідроксильні, ліпідні, пероксинітрити та H_2O_2) безпосередньо та опосередковано шляхом ферментативних реакцій.

Зниження рівня GSH призводить до дисбалансу глутатіон-залежної антиоксидантної системи у плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині у хворих з різним ступенем дегенерації суглобового хряща.

Як видно з даних таблиці 5 відзначається зниження рівня GSH у плазмі крові у групах хворих з 1-ю та 2-ю стадією у 1,3–1,8 разу, а у групах хворих з 3-ю та 4-ю стадією у 3,8–6,6 разу відносно показників здорових донорів, та у 4,9 разу – порівняно з групою хворих з 1-ю та 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща.

В еритроцитах у групах хворих з 1-ю та 2-ю стадією зниження рівня GSH відзначається у 1,2–1,4 разу, у групах хворих з 3-ю та 4-ю стадією – у 2,2–3,5 разу порівняно з групою хворих з 1-ю та 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща. У синовіальній рідині хворих з 1-ю і 2-ю стадією зниження рівня GSH відзначено в 1,2–2,0 разу, в групах хворих з 3-ю і 4-ю стадією – в 3,2–4,5 разу, порівняно з групою здорових донорів, і в 3,7 разу – порівняно з групою хворих з 1-ю та 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща.

Зниження рівня GSH у хворих на вторинний ОА в періоді загострення призводить до дисбалансу глутатіон-залежної антиоксидантної системи орга-

The level of COD in erythrocytes in the groups of patients with stage 1 and 2 during the exacerbation period decreased by 1.1–1.3 times, and in the groups of stages 3 and 4 by 1.7–2.5 times compared to the indicators of the group of healthy donors and in 2, 3 times compared to group 1 and stage 4.

In the synovial fluid, the level of COD decreased in the group of patients with stage 1 and 2 by 1.5–2.3 times that of the group of healthy donors, and demonstrably in the groups of patients with stage 3 and 4 of articular cartilage degeneration by 4.0–7.3 times reliably ($p < 0.05$) differing from the level of healthy donors and 4.7 times compared to group 1 and 4 stage of articular degeneration cartilage.

A decrease in COD in patients with secondary OA in the period of exacerbation inhibits the inhibition of lipid peroxidation at the stage of oxygen activation and the reaction of the dismutation of reactive oxygen species (ROS) into hydrogen peroxide, enhancing the processes of articular cartilage degeneration. Increased production of ROS leads to the development of oxidative stress, which increases the development of the degenerative-dystrophic process in the joints. The most important system that inhibits the development of oxidative stress and the development of degenerative-dystrophic processes in the joints is the glutathione-dependent antioxidant system. It includes glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPO), glutathione-S-transferase, glutathione reductase (GR), glutaredoxins (Grx) and peroxiredoxins (Prx). This antioxidant system supports cell-tissue homeostasis of articular cartilage and synovial membrane, and its decrease increases degenerative-dystrophic processes in the joint, increasing the autoimmune component in this contingent of patients [8, 13].

Glutathione-tripeptide (L-γ-glutamyl-L-cysteinyl-glycine), which has antioxidant properties. Due to the presence of a cysteine residue, GSH is non-enzymatically easily oxidized by electrophilic compounds (ROS) to glutathione disulfide (GSSG). As an antioxidant, glutathione plays a central role in the anti-radical and anti-peroxide protection of articular cartilage cells. GSH effectively neutralizes free radicals (hydroxyl, lipid, peroxynitrite and H_2O_2) directly and indirectly through enzymatic reactions.

A decrease in the level of GSH leads to an imbalance of the glutathione-dependent antioxidant system in blood plasma, erythrocytes, and synovial fluid in patients with various degrees of articular cartilage degeneration.

As can be seen from the data in the table 5, there is a decrease in the level of GSH in the blood plasma in groups of patients with stage 1 and 2 by 1.3–1.8 times, and in groups of patients with stage 3 and 4 by 3.8–6.6 times compared to the indicators of healthy donors and in 4,9 times compared to the group of patients with stage 1 and stage 4 of articular cartilage degeneration.

In erythrocytes in groups of patients with stage 1 and 2, the level of GSH decreased by 1.2–1.4 times, in groups of patients with stage 3 and 4 by 2.2–3.5 times compared to the group of patients with stage 1 and 4 of articular cartilage degeneration . In the synovial fluid of patients with stage 1 and 2, I note a decrease in the level of GSH by 1.2–2.0 times, in groups of patients with stage 3 and 4, by 3.2–4.5 times compared to the group of healthy donors and by 3.7 times in comparison with the group of patients with stage 1 and 4 of articular cartilage degeneration.

A decrease in the level of GSH in patients with secondary OA during the exacerbation period leads to an imbalance of the glutathione-dependent antioxidant

нізму, формуючи резистентність організму до агресивних факторів, що визначає субклінічний перебіг захворювання.

system of the body, forming the body's resistance to aggressive factors, which determines the subclinical course of the disease.

Таблиця 5. Вміст глутатіону в плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині хворих на вторинний ОА у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща, (M ± m)
Table 5. Glutathione content in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary OA in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration, (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, мкмоль/мл Blood plasma, μmol/ml	Еритроцити, мкмоль/л Erythrocytes, μmol/l	Синовіальна рідина, ммоль/л Synovial fluid, mmol/l
Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	23	6,2±0,62$^{\alpha\wedge}$	10,1±0,54$^{\alpha}$	3,4±0,74$^{\alpha}$
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	4,5±0,35$^{\wedge\vee}$	8,6±0,49$^{\wedge}$	2,1±0,63*$^{\wedge}$
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	2,1±0,28*$^{\wedge}$	5,4±0,62*	1,3±0,38*$^{\alpha\wedge}$
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	1,2±0,23*$^{\alpha\wedge}$	3,6±0,43*$^{\alpha\wedge}$	0,9±0,38*$^{\alpha\wedge}$
Здорові донори Healthy donors	25	8,4±0,84	12,2±0,68	4,2±0,82

Примітки:
* відмінності порівняно зі здоровими донорами (p < 0,05);
α – відмінності між показниками 1-ї та 4-ї стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,05);
^ – відмінності між показниками 4-ї стадії в груп і 2-ї стадією з 3-ї стадією (p < 0,05);
v – відмінності між показниками 1-ї, 2-ї та 4-ї стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,05).

Примітки:
* відмінності порівняно зі здоровими донорами (p < 0,05);
α – відмінності між показниками 1-ї та 4-ї стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,05);
^ – відмінності між показниками 4-ї стадії в груп і 2-ї стадією з 3-ї стадією (p < 0,05);
v – відмінності між показниками 1-ї, 2-ї та 4-ї стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,05).

Наступним етапом досліджень було визначення глутатіонпероксидази (ГПО) у хворих на вторинний ОА в періоді загострення. Слід зазначити, що ГПО – сімейство ферментів, які каталізують відновлення перекису водню до води, органічних гідроперекисів – до відповідних спиртів з використанням глутатіону як косубстрату, а також виявляють пероксинітрит-редуктазну активність. ГПО представлена різними ізоформами, з яких ГПО1 (цитозольна), ГПО3 та ГПО4 (L-форма локалізована в мітохондріях, S-форма-в – ядрі, ендоплазматичному ретукелумі та цитоплазмі) експресуються в тканинах суглоба.

Рівень ГПО у плазмі крові (табл. 6) прогресивно знижується при зростанні стадії денегерації суглобового хряща. Так, у групах хворих на 1-шу та 2-гу стадії дегенерації суглобового хряща ГПО нижче у 1,5–2,0 рази, а при 3-й та 4-й стадії – нижче у 3,4–4,9 разу щодо показників групи здорових донорів. В еритроцитах у групах хворих 1-ї та 2-ї стадії відзначається зниження рівня ГПО у 1,4–2,1 разу, а у групах хворих 3-ї та 4-ї стадії у 3,2–5,8 разу, порівняно з рівнем ГПО у групі здорових донорів, та у 4,0 рази – порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

Можна вважати, що зниження активності ГПО у синовіальній рідині є важливою ланкою патогенезу дегенеративно-дистрофічного процесу у суглобі (табл. 6). У синовіальній рідині у групах хворих з 1-ю та 2-ю стадією відзначається зниження рівня ГПО у 1,6–2,6 разу, а у групах хворих 3-ї та 4-ї стадії – у 3,7–5,1 разу, та у 3,2 разу – порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

The next stage of research was the determination of glutathione peroxidase (GPO) in patients with secondary OA during the exacerbation period. It should be noted that HPO is a family of enzymes that catalyze the reduction of hydrogen peroxide to water, organic hydroperoxides to corresponding alcohols using glutathione as a cosubstrate, and also exhibit peroxynitrite reductase activity. HPO is represented by various isoforms, of which HPO1 (cytosolic), HPO3 and HPO4 (L -form is localized in mitochondria, S-form is in the nucleus, endoplasmic retuculum and cytoplasm) are expressed in joint tissues.

The level of GPO in blood plasma (Table 6) progressively decreases with increasing stage of articular cartilage degeneration. Thus, in groups of patients at stages 1 and 2 of articular cartilage degeneration, GPO is 1.5-2.0 times lower, and at stages 3 and 4 – 3.4–4.9 times lower compared to the group of healthy donors. In erythrocytes in the groups of patients of stage 1 and 2, there is a decrease in the level of HPO by 1.4–2.1 times, and in the groups of patients of stages 3 and 4 by 3.2–5.8 times, compared to the level of HPO in the group of healthy donors and in 4.0 times compared to the group of patients with stage 1 and stage 4 degeneration of articular cartilage.

It can be considered that the decrease in the activity of HPO in the synovial fluid is an important link in the pathogenesis of the degenerative-dystrophic process in the joint (Table 6). In the synovial fluid in the groups of patients with stage 1 and 2, there is a decrease in the level of HPO by 1.6–2.6 times, and in the groups of patients with stages 3 and 4 by 3.7–5.1 times and by 3.2 times compared to the group patients with 1 and 4 stages of articular cartilage degeneration.

Таблиця 6. Вміст глутатіонпероксидази у плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині хворих на вторинний ОА у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща (M ± m)
Table 6. The content of glutathione peroxidase in plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary OA in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, мкмоль/мл Blood plasma, IU/g of protein	Еритроцити, мкмоль/л Erythrocytes, IU/g of Hb	Синовіальна рідина, ммоль/л Synovial fluid, IU/g of protein
Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	23	21,3±0,43^	186,7±2,43^	26,6±0,69*^
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	16,1±0,57*^	129,4±2,37*^	18,7±0,83*^
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	9,4±0,28*	83,6±1,67*	11,5±0,75*
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	6,5±0,34*^	46,5±1,84*^	8,3±0,74*^
Здорові донори Healthy donors	25	32,3±2,45	268,4±12,36	43,1±4,65

Примітки:
* відмінності порівняно зі здоровими донорами (p < 0,05);
^ – відмінності порівняно в групах з 1-ю, 2-ю та 4-ю стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,05).
Notes:
* differences compared to healthy donors (p < 0.05);
^ – differences compared in groups 1, 2 and 4 by stages of articular cartilage degeneration (p < 0.05).

Глутатіонпероксидази здатні відновлювати гідроперекиси групи окислених фосфоліпідів безпосередньо в мембранах клітин без попереднього їх гідролізу фосфоліпазою або вільними жирними кислотами.

Система ПОЛ добре збалансована і функціонує за принципом зворотного зв'язку, оскільки продукти ПОЛ пригнічують активність антиоксидантних ферментів. Однак у хворих на вторинний ОА в періоді загострення має місце активація ПОЛ та зниження активності глутатіон-S-редуктази. Глутатіон-S-трансферази (ГST) мультифункціональні білки виявляють антиоксидантні дії шляхом відновлення гідроперекисів ліпідів або кон'югації з глутатіоном та елімінації проміжних продуктів ПОЛ типу алкеналів.

Очевидно, що зниження ГST у плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині призводить до негативних наслідків, пов'язаних із накопиченням у середовищі суглоба високотоксичних реактивних карбонільних сполук (4-гідроксиноненалю та ін.) та кінцевих продуктів ліпопероксидації (ALEs, advanced lipoxidation end-products), які викликають окиснювальну модифікацію макромолекул екстраклітинного матриксу, що сприяє розвитку потужного дегенеративно-дистрофічного ураження клітинно-тканинних структур суглобового хряща [9].

Як видно з даних таблиці 7 у хворих на вторинний ОА в періоді загострення відзначалося зниження ГST у плазмі крові в групах хворих 1-ї і 2-ї стадії в 1,7–2,6 разу, у групах хворих 3-ї і 4-ї стадії в 3,7–8,7 разу, порівняно з показниками у групі здорових донорів, та у 5,2 разу – порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

В еритроцитах відзначається зниження ГST у групах хворих 1-ї та 2-ї стадії у 1,8–2,9 разу, у групах хворих 3-ї та 4-ї стадії у 4,6–14,8 разу, порівняно з показниками у групі здорових донорів.

У синовіальній рідині відзначається зниження ГST у групах хворих 1-ї та 2-ї стадії у 2,1–2,4 разу, у групах хворих 3-ї та 4-ї стадії – у 5,5–12,5 разу, порівняно з показниками у групі здорових донорів, та у 6,0 разів –

Glutathione peroxidases (GPOs) are capable of reducing hydroperoxides of the group of oxidized phospholipids directly in cell membranes without prior hydrolysis by phospholipase or free fatty acids.

The LPO system is well balanced and functions according to the principle of feedback, since LPO products suppress the activity of antioxidant enzymes. However, in patients with secondary OA, in the period of exacerbation, LPO activation and glutathione-S-reductase activity decrease. Glutathione-S-transferase (GST) multifunctional proteins exhibit antioxidant effects by reducing lipid hydroperoxides or conjugation with glutathione and eliminating intermediate products of LPO of the alkenal type.

It is obvious that the reduction of GST in plasma, erythrocytes and synovial fluid leads to negative consequences associated with the accumulation of highly toxic reactive carbonyl compounds (4-hydroxynonenal, etc.) and lipoperoxidation end products (ALEs, advanced lipoxidation end-products) in the joint environment, which cause oxidative modification of macromolecules of the extracellular matrix, which contributes to the development of a powerful degenerative-dystrophic lesion of the cell-tissue structures of articular cartilage [9].

As is obvious from the data in the table 7 in patients with secondary OA during the exacerbation period, there was a decrease in GST in the blood plasma in the groups of patients of the 1st and 2nd stages by 1.7–2.6 times, in the groups of patients of the 3rd and 4th stages by 3.7–8.7 times in comparison with indicators in the group of healthy donors and 5.2 times compared to the group of patients with stage 1 and stage 4 degeneration of articular cartilage.

In erythrocytes, there is a 1.8–2.9-fold decrease in GST in the groups of patients of stage 1 and 2, in the groups of patients of stage 3 and 4, it is 4.6–14.8 times compared to the indicators in the group of healthy donors.

In the synovial fluid, there is a decrease in GST in the groups of patients of stage 1 and 2 by 2.1–2.4 times, in the groups of patients of stages 3 and 4 by 5.5–12.5 times compared to the indicators in the group of healthy donors

порівняно з групою хворих 1-ї та 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

and in 6.0 times compared to the group of patients with stage 1 and stage 4 degeneration of articular cartilage.

Таблиця 7. Вміст глутатіон-S-редуктази у плазмі, еритроцитах та синовіальній рідині хворих на вторинний остеоартрит у періоді загострення залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща (M ± m)
Table 7. The content of glutathione-S-reductase in plasma, erythrocytes and synovial fluid of patients with secondary osteoarthritis in the period of exacerbation depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number patients	Плазма крові, мкмоль/мл Blood plasma, IU/g of protein	Еритроцити, мкмоль/л Erythrocytes, IU/g of Hb	Синовіальна рідина, ммоль/л Synovial fluid, IU/g of protein
Стадія 1 / Stage 1 (<10%)	23	8,6±0,74^α	2,1±0,37^α	1,1±0,23*^α
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	5,4±0,62*^	1,3±0,28*^	0,9±0,06*^
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	3,8±0,48*^α	0,8±0,08*^α	0,4±0,04*^α
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	1,6±0,39*^	0,2±0,03*^	0,2±0,02*^
Здорові донори Healthy donors	25	14,3±0,87	3,8±0,72	2,3±0,64

Примітки:
* відмінності порівняно зі здоровими донорами (p < 0,01, p < 0,001);
^ – відмінності між 1-ю, 2-ю та 3-ю, 4-ю стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,05);
α – відмінності між 3-ю, 4-ю та 1-ю стадіями дегенерації суглобового хряща (p < 0,001).

Notes:
* differences compared to healthy donors (p < 0.01, p < 0.001);
^ – differences between 1, 2 and 3, 4 stages of articular cartilage degeneration (p < 0.05);
α – differences between 3, 4 and 1 stages of articular cartilage degeneration (p < 0.001).

Синовіальна рідина є одним з основних органоспецифічних компонентів суглоба, значною мірою визначає його морфофункціональний стан, та є одним з діагностично значимих в оцінці ступеня дегенерації суглобового хряща.

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що у хворих на вторинний ОА у періоді загострення зростають процеси перекисного окиснення ліпідів та зниження активності антиоксидантної системи, які прогресують залежно від стадії дегенерації суглобового хряща. Дефіцит антиоксидантних ферментів (каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази), зниження їх активності та загального глутатіону в крові у даного контингенту хворих призводить до зриву захисних механізмів та активації ПОЛ, викликаючи ушкодження клітинно-тканинних мембран суглобового хряща. На наш погляд, у даного контингенту хворих має місце зрив адаптаційних механізмів ферментів антиоксидантного захисту, що не виключає первинної або вторинної ферментопатії, зумовленої токсичною дією на дані ферментні системи активних форм кисню та гідроперекисів ліпідів.

Виявлена нами дисфункція глутатіонової системи в синовіальній рідині та гіперпродукції первинних (ДК) та вторинних (МДА) кінцевих продуктів реакції ПОЛ викликає прогресування хронічного млявого запалення, активуючи фактори транскрипції регуляторів запалення (NF-kB, AP-1) і подальше збільшення експресії прозапальних цитокінів, хемокінів, ейкозаноїдів, які сприяють активації процесу апоптозу клітинно-тканинних структур суглобового хряща та синовіальної оболонки.

Synovial fluid is one of the main organ-specific components of a joint and largely determines its morpho-functional state and is one of the diagnostically significant factors in assessing the degree of degeneration of articular cartilage.

Thus, our research has shown that in patients with secondary OA, during the exacerbation period, the processes of lipid peroxidation increase and the activity of the antioxidant system decreases, which progress depending on the degree of articular cartilage degeneration. Deficiency of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase), a decrease in their activity and total glutathione in the blood in this contingent of patients leads to the breakdown of protective mechanisms and activation of lipids, causing damage to the cellular membranes of articular cartilage. In our opinion, in this contingent of patients there is a disruption of adaptive mechanisms of antioxidant protection enzymes, which does not exclude primary or secondary enzymopathy caused by the toxic effect on these enzyme systems of reactive oxygen species and lipid hydroperoxides.

The dysfunction of the glutathione system in the synovial fluid and the hyperproduction of primary (DC) and secondary (MDA) that we discovered causes the progression of chronic indolent inflammation, activating the transcription factors of inflammation regulators (NF-kB, AP-1) and further increasing the expression of pro-inflammatory cytokines, chemokines, eicosanoids, which contribute to the activation of the process of apoptosis of the cell-tissue structures of articular cartilage and the synovial membrane.

ВИСНОВКИ

У хворих на вторинний ОА має місце підвищення рівнів первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югантів в плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині в групах 1-ї (< 10%) і 2-ї (10–25%) стадії об'єму дегенерації суглобового хряща.

У хворих на вторинний ОА 3-ї і 4-ї (> 50%) стадії, має місце переключення первинних продуктів ПОЛ на кінцеві продукти окиснення ліпідів – МДА у плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща, що призводить до прогресування хронічного запалення, посилення аутоімунного компонента та апоптозу клітин суглобового хряща.

У хворих на вторинний ОА на тлі підвищення ПОЛ відбувається зрив системи ферментів антиоксидантного захисту, який наростає в групах від 2-ї до 4-ї стадії дегенерації суглобового хряща.

Дисфункція глутатіон-залежної антиоксидантної системи в плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині посилює дегенеративні процеси в групах з 3-ю і 4-ю стадією, це дає можливість застосування L-глутатіону в комплексній терапії у даного контингента хворих.

CONCLUSIONS

In patients with secondary OA, there is an increase in the levels of primary LPO products of diene conjugates of DC in blood plasma, erythrocytes, and synovial fluid in groups 1 (< 10%) and 2 (10–25%) of the stage of articular degeneration volume cartilage

In patients with secondary OA stage 3 and 4 (> 50%), there is a shift of the primary products of POL (DC) to the end products of MDA lipid oxidation in blood plasma, erythrocytes, and synovial fluid, depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration, which leads to the progression of chronic inflammation, strengthening of the autoimmune component and apoptosis of articular cartilage cells.

In patients with secondary OA, against the background of an increase in LPO, there is a disruption of the enzyme system of antioxidant protection, which increases in groups from the 2nd to the 4th stage of articular cartilage degeneration.

Dysfunction of the glutathione-dependent antioxidant system in blood plasma, erythrocytes and synovial fluid increases degenerative processes in groups 3 and 4 stage, this makes it possible to use L-glutathione in complex therapy in this contingent of patients.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Методические особенности исследования перекисного окисления и радиация. Киев: Наук. думка, 1991. С. 52–75.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. Киев: Чернобыльинтерн-информ, 1997. 423 с.
3. Бородін С., Короткий О., Юет А., Дворщенко К. Перекисне окиснення ліпідів у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після Sars-Cov2-інфекції. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 2022. № 3(90). С. 5–8. DOI: https://doi.org/10.17721/1728.2748.2022.90.5-8
4. Голуб О.І., Лядова Т.І., Волобуєва О.В., Чернуський В.Г., Попов М.М., Летяго Г.В., Павлікова К.В. Роль патогенної та умовнопатогенної мікрофлори, що локалізується в ротоглотці в етіопатогенезі вторинного остеоартрозу. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* 2023. № 12. С. 22–28. DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2023-12-03
5. Короткий О., Кот Л., Дворщенко К. Перекисне окиснення ліпідів у хрящовій тканині щурів за умов експериментального остеоартриту та при введенні мультипробіотика. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 2020. № 1(80). С. 41–44. DOI: https://doi.org/10.17721/1728_2748.2020.80.41-44
6. Сибіль М.Г. Клінічна біохімія: навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів фізкультурного профілю. Львів: ЛДУФК, 2015. 228 с.
7. Широбокова В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищих мед. навч. Закладів. Вінниця: Нова Книга, 2021. 920 с.
8. Desideri E., Ciccarone F., Ciriolo M.R. Targeting glutathione metabolism: partner in crime in anticancer therapy. *Nutrients*. 2019. №11. P. 1914–1926. DOI: https://doi.org/10.3390/nu11081926
9. Hines M., Gomez-Contreras P.C., Rodman S., Liman S., Coleman M. Lipid peroxidation regulates chondrocyte mitochondrial dynamics and cartilage injury response. *Free radical biology & medicine*. 2022. №180. s22 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.041
10. Mas-Bargues C., Escrivá C., Dromant M., Borrás C., Viña J. Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2021. № 709. DOI: https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108941
11. Scott J.L., Gabrielides C., Davidson R.K., Swingler T.E., Clark I.M., Wallis G.A., et al. Superoxide dismutase downregulation in osteoarthritis progression and endstage disease. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010. № 69. P. 1502–1520. DOI: https://doi.org/10.1136/ard.2009.119966

REFERENCES

1. Baraboy VA, Orel VE, Karnaukh IM. Methodological features of research on peroxidation and radiation. Kyiv: Nauk. opinion, 1991:52–75. (In Russian).
2. Baraboy VA, Sutkovoy DA. Oxidative-antioxidant homeostasis in normal and pathological conditions. Kyiv: Chernobyl Interninform, 1997:423. (In Russian).
3. Borodin S, Korotkyi O, Yuet A, Dvorschenko K. Lipid peroxidation in synovial fluid of osteoarthritis patients after Sars-Cov2 infection. *Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv.* 2022;3(90):5–8. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.17721/1728.2748.2022.90.5-8
4. Holub OI, Lyadova TI, Volobueva OV, Chernusky VG, Popov MM, Letyago GV, Pavlikova KV. The role of pathogenic and opportunistic microflora localized in the oropharynx in the etiopathogenesis of secondary osteoarthritis. *Current problems of modern medicine.* 2023;12:22–8. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2023-12-03
5. Korotkyi O, Kot L, Dvorschenko K. Lipid peroxidation in rat cartilage tissue under conditions of experimental osteoarthritis and with the administration of a multiprobiotic. *Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv*. 2020;1(80):41–4. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.17721/1728_2748.2020.80.41-44
6. Sybil MG. Clinical biochemistry: a textbook for students of higher educational institutions of physical education. Lviv: LSUFC, 2015:228. (In Ukrainian).
7. Shirobokova VP. Medical microbiology, virology and immunology: a textbook for students of higher medical educational institutions. Vinnytsia: Nova Kniga, 2021:920. (In Ukrainian).
8. Desideri E, Ciccarone F, Ciriolo MR. Targeting glutathione metabolism: partner in crime in anticancer therapy. *Nutrients*. 2019;11:1914–26. DOI: https://doi.org/10.3390/nu11081926
9. Hines M, Gomez-Contreras PC, Rodman S, Liman S, Coleman M. Lipid peroxidation regulates chondrocyte mitochondrial dynamics and cartilage injury response. *Free radical biology & medicine*. 2022;180:s22. DOI: https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.041
10. Mas-Bargues C, Escrivá C, Dromant M, Borrás C, Viña J. Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2021;709. DOI: https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108941
11. Scott JL, Gabrielides C, Davidson RK, Swingler TE, Clark IM, Wallis GA, et al. Superoxide dismutase downregulation in osteoarthritis progression and endstage disease. *Annals of the rheumatic diseases.* 2010;69:1502–20. DOI: https://doi.org/10.1136/ard.2009.119966

12. Suantawee T., Tantavisut S., Adisakwattana S., Tanavalee A., Yuktanandana P., Anomasiri W., et al. Oxidative stress, vitamin E, and antioxidant capacity in knee osteoarthritis. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2013. № 7. P. 1855–1864. DOI: https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5802.3333
13. Xiong Y., Xiao C., Li Z., Yang X. Engineering nanomedicine for glutathione depletion-augmented cancer therapy. *Chemical Society reviews*. 2021. № 50. P. 6013– 6054. DOI: https://doi.org/10.1039/d0cs00718h
14. Yin G., Wang Y., Cen X.M., Yang M., Liang Y., Xie Q.B. Lipid peroxidation-mediated inflammation promotes cell apoptosis through activation of NF-κB pathway in rheumatoid arthritis synovial cells. *Mediators Inflamm*. 2015. № 1. DOI: https://doi.org/10.1155/2015/460310

12. Suantawee T, Tantavisut S, Adisakwattana S, Tanavalee A, Yuktanandana P, Anomasiri W, et al. Oxidative stress, vitamin E, and antioxidant capacity in knee osteoarthritis. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2013;7:1855–64. DOI: https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5802.3333
13. Xiong Y, Xiao C, Li Z, Yang X. Engineering nanomedicine for glutathione depletion-augmented cancer therapy. *Chemical Society reviews*. 2021;50:6013– 54. DOI: https://doi.org/10.1039/d0cs00718h
14. Yin G, Wang Y, Cen XM, Yang M, Liang Y, Xie QB. Lipid peroxidation-mediated inflammation promotes cell apoptosis through activation of NF-κB pathway in rheumatoid arthritis synovial cells. *Mediators Inflamm*. 2015;1. DOI: https://doi.org/10.1155/2015/460310

Перспективи подальших досліджень

Виявлена дисфункція глутатіон-залежної антиоксидантної системи в плазмі крові, еритроцитах та синовіальній рідині посилює дегенеративні процеси при прогресуванні дегенеративного процесу в суглобовому хрящі. Цей факт дає можливість застосування L-глутатіону в комплексній терапії у таких пацієнтів, і є перспективним напрямом.

Prospects for further research

The identified dysfunction of the glutathione-dependent antioxidant system in blood plasma, erythrocytes, and synovial fluid increases degenerative processes during the progression of the degenerative process in articular cartilage. This fact makes it possible to use L-glutathione in complex therapy in such patients and is a promising direction.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів, або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously certify the absence of actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the provided materials or who sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, медичного факультету, кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування», номер державної реєстрації: 0123U105022, фундаментальна, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

Funding information

The article is a fragment of the planned research work of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process caused by bacteria, viruses, viral – bacterial associations in the acute, protracted and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics», state registration number: 0123U105022, fundamental, implementation period: 2023–2028, head – Head of the Department, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Голуб Олексій Ігорович – аспірант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: o.golub.med@gmail.com
моб.: +38 (063) 499-21-20

Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Golub Oleksiy Ihorovych – Postgraduate student of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: o.golub.med@gmail.com
tel.: +38 (063) 499-21-20

Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Чернуський В'ячеслав Григорович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua
моб.: +38 (095) 146-36-17
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Летяго Ганна Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри педіатрії медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: letyago@karazin.ua
моб.: +38 (099) 778-37-23
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Павлікова Ксенія В'ячеславівна – доктор філософії з медицини, асистент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: k.pavlikova@karazin.ua
моб.: +38 (050) 873-37-08
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Chernusky Viacheslav Hryhorovych – Doctors of Medical Sciences, Professor. Professor Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua
tel.: +38 (095) 146-36-17
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Letiaho Hanna Volodymyrivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor Department of Pediatrics V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: letyago@karazin.ua
tel.: +38 (099) 778-37-23
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.*

Pavlikova Ksenia Viacheslavivna – Doctor of Philosophy in Medicine, Assistant Professor of the Department Infectious Diseases and Clinical Immunology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: k.pavlikova@karazin.ua
tel.: +38 (050) 873-37-08
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 03.09.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 149–158
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):149–158 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-04
УДК: 616.72-018.3-002-003.8:612.017:576.32/.36

Дисбаланс маркерів клітинного імунітету як один із факторів апоптозу хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії обсягу дегенерації суглобового хряща

Голуб О.І.[1], https://orcid.org/0009-0000-6239-7902, e-mail: o.golub.med@gmail.com
Чернуський В.Г.[1], https://orcid.org/0000-0001-5657-9486, e-mail: chernusky@karazin.ua
Летяго Г.В.[1], https://orcid.org/0000-0002-6327-1321, e-mail: letyago@karazin.ua
Павлікова К.В.[1], https://orcid.org/0000-0002-1228-4915, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua
Воронкіна І.А.[2], https://orcid.org/0000-0002-2925-9601, e-mail: voronkina2008@ukr.net
Волобуєв Д.В.[1], https://orcid.org/0009-0000-4580-0667, e-mail: danalex999@ukr.net

[1]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Університет Коменського в Братиславі та Університетська лікарня Братислави, Братислава, Словацька Республіка

Imbalance of markers of cellular immunity as one of the factors of apoptosis in patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration

Golub O.I.[1], https://orcid.org/0009-0000-6239-7902, e-mail: o.golub.med@gmail.com
Chernusky V.H.[1], https://orcid.org/0000-0001-5657-9486, e-mail: chernusky@karazin.ua
Letiaho H.V.[1], https://orcid.org/0000-0002-6327-1321, e-mail: letyago@karazin.ua
Pavlikova K.V.[1], https://orcid.org/0000-0002-1228-4915, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua
Voronkina I.A.[2], https://orcid.org/0000-0002-2925-9601, e-mail: voronkina2008@ukr.net
Volobuiev D.V.[1], https://orcid.org/0009-0000-4580-0667, e-mail: danalex999@ukr.net

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Comenius University in Bratislava and University Hospital Bratislava, Bratislava, Slovak Republic

Ключові слова:

вторинний остеоартрит, маркери клітинного імунітету, апоптоз, каспази.

Для кореспонденції:

Чернуський В'ячеслав Григорович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua

© Голуб О.І., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Павлікова К.В., Воронкіна І.А., Волобуєв Д.В., 2024.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. На сучасному етапі розвитку проблеми патогенезу вторинного остеоартриту (ОА) стало вивчення факторів ініціації апоптозу клітинно-тканинних структур суглобового хряща та синовіальної оболонки, одними з яких є дисбаланс маркерів клітинного імунітету, що запускають активацію клітинної загибелі.
Мета роботи – вивчити зміни маркерів клітинного імунітету як одного з факторів апоптозу у хворих із вторинним ОА залежно від стадії обсягу дегенерації суглобового хряща.
Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 117 хворих віком 19–45 років, які перебували на стаціонарному лікуванні у Artz Klinic (м. Харків) з приводу вторинного ОА. Діагноз ОА встановлювався згідно з МКХ-Х. Усі хворі згідно з класифікацію Міжнародного товариства з вивчення ОА (OARSI) були поділені на 4 групи залежно від стадії ураження суглобового хряща від об'єму (%) дегенеративних змін: стадія 1 (< 10%); стадія 2 (10–25%); стадія 3 (25–50%); стадія 4 (> 50%). Для реалізації поставленої мети визначали субпопуляцію лімфоцитів у периферичній крові (CD_3^+; CD_4^+; CD_8^+; CD_{16}^+ (NK); CD_{22}^+), а також CD_{95}, FASL (CD_{178}), білка Annexin V (Vac-α); ферментів апоптозу: каспази – 1; 8; 3 – згідно з прийнятими методиками.
Результати та їх обговорення. Отримані дані підтвердили наявність дисбалансу маркерів клітинного імунітету та активацію CD_{16} (NK) та їх цитотоксичність, яка наростає в залежності від ступеня дегенерації суглобового хряща. Відзначалось підвищення показників: CD_{95}, FASL (CD_{178}) та ферментів апоптозу: каспази – 1; 8; 3, залежно від ступеня дегенерації суглобового хряща.
Висновки. У хворих на вторинний ОА має місце дисбаланс маркерів клітинного імунітету: зниження $CD3^+$, підвищення $CD4^+$; CD_{16}; (NK); супресія CD_8^+, зсув імунорегуляторного індексу CD4/CD8 вправо. Підвищення ліганду SFASL (CD_{178}), CD_{95} білка Annexin V та каспаз – 1; 8; 3, що характеризує апоптоз клітинно-тканинних структур суглобового хряща, підвищуючи аутоімунний компонент захворювання.

Для цитування:

Голуб О.І., Чернуський В.Г., Летяго Г.В., Павлікова К.В., Воронкіна І.А., Волобуєв Д.В. Дисбаланс маркерів клітинного імунітету як один з факторів апоптозу хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії обсягу дегенерації суглобового хряща. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 149–158. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-04

Key words:

secondary osteoarthritis, markers of cellular immunity, apoptosis, caspases.

For correspondence:

Chernusky Viacheslav Hryhorovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua

© *Golub O.I., Chernusky V.H., Letiaho H.V., Pavlikova K.V., Voronkina I.A., Volobuiev D.V., 2024*

ABSTRACT

Background. At the current stage of the development of the problem of the pathogenesis of secondary osteoarthritis (OA), the study of the factors that initiate apoptosis of the cellular structures of the articular cartilage and synovial membrane, one of which is the imbalance of markers of cellular immunity, which trigger the activation of cell death.

Purpose – is to study changes in markers of cellular immunity as one of the factors of apoptosis in patients with secondary OA depending on the stage of the amount of articular cartilage degeneration.

Materials and Methods. The study was conducted in 117 patients aged 19 to 45 years who were undergoing inpatient treatment at Artz Klinic (Kharkov) for secondary OA. The diagnosis of OA was established according to the IKX-X. All patients according to the classification of the International Society for the Study of OA (OARSI) were divided into 4 groups depending on the stage of damage to the articular cartilage volume (%) of degenerative changes: stage 1 (< 10%); stage 2 (10–25%); stage 3 (25–50%); stage 4 (> 50%). To achieve the goal, a subpopulation of lymphocytes in peripheral blood was determined (CD_3^+; CD_4^+; CD_8^+; CD_{16}+ (NK); CD_{22}^+), as well as CD_{95}, FASL (CD_{178}), Annexin V protein (Vac-α); apoptosis enzymes: caspases – 1; 8; 3 – according to the accepted methods.

Results. The obtained data confirmed the presence of an imbalance of markers of cellular immunity and the activation of CD_{16} (NK) and their cytotoxicity, which increases depending on the degree of degeneration of articular cartilage. There was an increase in indicators of CD95, FASL (CD_{178}) and apoptosis enzymes: caspases – 1; 8; 3 depending on the degree of degeneration of the articular cartilage.

Conclusions. In patients with secondary OA, there is an imbalance of markers of cellular immunity: a decrease in CD3+, an increase in CD_4^+; SD_{16}: (NK); suppression of CD_8^+, shift of immunoregulatory index CD_4/CD_8 to the right. Increase of SFASL ligand (CD_{178}), CD_{95} Annexin V protein and caspase – 1; 8; 3, which characterizes apoptosis of cellular and tissue structures of articular cartilage, increasing the autoimmune component of the disease.

For citation:

Golub OI, Chernusky VH, Letiaho HV, Pavlikova KV, Voronkina IA, Volobuiev DV. Imbalance of markers of cellular immunity as one of the factors of apoptosis in patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the volume of articular cartilage degeneration. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):149–158. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-04

ВСТУП

Вторинний остеоартрит (ОА) є водночас результатом дії поліетіологічних факторів, які порушують синхронні процеси біодеградації клітин суглобового хряща та субхондріальної кістки, змін функціональної активності ефекторних клітин синовіальної рідини, що беруть участь у патологічних процесах, а також різних форм клітинної загибелі – апоптозу [3, 4, 11].

Апоптоз – процес запрограмованої «фізіологічної» клітинної загибелі, при якому відбуваються зміни в ядрі (конденсація хроматину, каріопікноз, подальша фрагментація ядра, що супроводжується утворенням апоптичних тілець, зморщуванням цитоплазми, втратою рецепторів, експресією на поверхні молекул (фосфосерину, тромбоспазину), які не визначаються в нормі та ін. [3, 4, 11]. Існує три шляхи активації клітинної загибелі: перший – засобами передачі сигналу через CD_{95}. Білок CD_{95} (APO-1, Fas, antigen) є представником сімейства рецепторів смерті, який, у свою чергу, входить до складу суперродини рецеп-

INTRODUCTION

Secondary osteoarthritis (OA) is simultaneously the result of polyetiological factors that disrupt the synchronous processes of biodegradation of articular cartilage and subchondral bone cells, changes in the functional activity of synovial fluid effector cells involved in pathological processes, as well as various forms of cell death – apoptosis [3, 4, 11].

Apoptosis is a process of programmed «physiological» cell death, during which changes occur in the nucleus (condensation of chromatin, karyopyknosis, further fragmentation of the nucleus, which is accompanied by the formation of apoptotic bodies, shrinkage of the cytoplasm, loss of receptors, expression on the surface of molecules (phosphoserine, thrombospasin) that are not are determined in the norm, etc. [3, 4, 11]. There are three ways of cellular activation death: the first means of signaling through CD95. The protein CD_{95} (APO-1, Fas, antigen) is a member of the family of death receptors, which, in turn, is part of the tumor

торів фактора некрозу пухлин. Ініціація апоптозу через рецептор CD_{95} відбувається при зв'язуванні CD_{95} ліганду, CD_{95}-L (CD_{178}). При цьому на клітинній мембрані формується рецепторний комплекс із запуском клітинної смертй (death-inducing signaling complex, DISC).

Другий – внутрішній (мітохондріальний) шлях активації процесу, пов'язаного з проапоптотичним білком p53, білковими молекулами сімейства Bcl-2 та цитохромом С.

Третій – ліпідний шлях. Ліпідні молекули, сфінголіпіди та глікосфінголіпіди є медіаторами апоптозу у різних клітинних системах. Після взаємодії з CD_{95} лігандом і наступної за ним активації кислих сфінгомієліназ, сфінгомієлін гідролізується до цираміду, а цирамід, у свою чергу, перетворюється на гангліозид GD_3 – потенційний медіатор апоптозу, що індукує мітохондріальні пошкодження, часткову втрату трансмембранного потенціалу та фрагментацію ядра клітини. Fas-опосередковий шлях у певних умовах може трансформуватися в мітохондріальний і, крім того, може бути пов'язаний з ліпідним шляхом запрограмованої загибелі клітин. Ці механізми перебувають у тісному взаємозв'язку, доповнюючи одне одного, що мінімізує можливість збою процесу клітинної смерті і супроводжуються підвищеним окиснювальним стресом у суглобовій тканині, синовіальній оболонці та синовіальній рідині, стимулюючи активацію гена p53, викликаючи H_2O_2 – опосередкований апоптоз [3, 4, 11].

Механізми апоптозу клітиннотканинних структур суглобового хряща, синовіальної оболонки, кісткової тканини, які можуть запускатися через дисбаланс маркерів клітинного імунітету та їх вплив на послідовність морфологічних та біохімічних змін, що відбуваються в ядрі, цитоплазмі та клітинній мембрані суглобового хряща, кістки у хворих на вторинний ОА, на даний момент до кінця не вивчені.

З урахуванням уявлень про напіврідке фосфоліпідне середовище мембран, в якому білки циркулюють вільно і розташовуються по-різному по відношенню до подвійного шару ліпідів, найбільш правдоподібно припустити, що відповідальні за транспорт білки, зв'язуючись з лігандом, утворюють тунелі, через які речовини, що транспортуються, можуть проникати всередину клітини, викликати токсичну дію, порушувати процеси метаболізму та запускати процес апоптозу. При стимуляції тканин будь-яким мітогеном (антигеном) їх клітини переходять у стан підвищеної мітогенної активності, яка обов'язково супроводжується деякою активацією апоптозу. Частка клітинних елементів суглобового хряща, синовіальної оболонки, кісткової тканини залежить від співвідношення активаторів та інгібіторів апоптозу: інгібітори включають фактори росту, клітинний матрикс, статеві гормони, деякі вірусні білки; активатори включають фактори, що впливають на втрату зв'язку з матриксом, глюкокортикостероїди, цитостатики, антиметаболіти, прозапальні цитокіни, віруси, іонізуюча радіація та перекисне окиснення ліпідів [1]. Все це приводить до дисбалансу маркерів клітинного імунітету (CD_3^+; CD_4^+; CD_8^+; CD_{16}^+; CD_{22}^+) підвищуючи їх цитотоксичну активність, що приводить до деструктивно-дегенеративних процесів у клітинних структурах суглоба та їх апоптозу [10].

necrosis factor receptor superfamily. Initiation of apoptosis through the CD_{95} receptor binding of CD_{95} ligand, CD_{95}-L (CD_{178}).At the same time, a receptor complex is formed on the cell membrane, triggering cell death (death-inducing signaling complex, DISC).

The second is the internal (mitochondrial) pathway of activation of the process associated with the proapoptotic protein p53, protein molecules of the Bcl-2 family, and cytochrome C.

The third is the lipid pathway. Lipid molecules, sphingolipids and glycosphingolipids are mediators of apoptosis in various cellular systems. After CD_{95} ligand interaction and subsequent activation of acidic sphingomyelinases, sphingomyelin is hydrolyzed to ceramide, and ceramide, in turn, is converted to ganglioside GD_3, a potential mediator of apoptosis, which induces mitochondrial damage, partial loss of transmembrane potential, and fragmentation of the cell nucleus. The Fas-mediated pathway can, under certain conditions, transform into a mitochondrial pathway and, in addition, may be associated with the lipid pathway of programmed cell death. These mechanisms are closely interconnected, complementing each other, which minimizes the possibility of failure of the cell death process and are accompanied by increased oxidative stress both in joint tissue, synovial membrane and synovial fluid, stimulating the activation of the p53 gene, causing H_2O2-mediated apoptosis [3, 4, 11].

Mechanisms of apoptosis of cell-tissue structures of articular cartilage, synovial membrane, bone tissue, which can be triggered due to an imbalance of markers of cellular immunity and their influence on the sequence of morphological and biochemical changes occurring in the nucleus, cytoplasm and cell membrane of articular cartilage, bone in patients with secondary OA on this moment has not been fully studied.

Taking into account the ideas about the semi-liquid phospholipid environment of membranes, in which proteins circulate freely and are located differently in relation to the lipid bilayer, it is most plausible to assume that the proteins responsible for transport, binding to the ligand, form tunnels through which substances that are transported, can penetrate inside the cell, cause a toxic effect, disrupt metabolic processes and trigger the process of apoptosis. When tissues are stimulated with any mitogen (antigen), their cells enter a state of increased mitogenic activity, which is necessarily accompanied by some activation of apoptosis. The fate of cellular elements of articular cartilage, synovial membrane, bone tissue depends on the ratio of activators and inhibitors of apoptosis: inhibitors include growth factors, cell matrix, sex hormones, some viral proteins; activators include factors that affect the loss of connection with the matrix, glucocorticosteroids, cytostatics, antimetabolites, proinflammatory cytokines, viruses, ionizing radiation, and lipid peroxidation [1]. All this leads to an imbalance of markers of cellular immunity ($СД_3^+$; $СД_4^+$; $СД_8^+$; $СД_{16}^+$; $СД_{22}^+$) increasing their cytotoxic activity, which leads to destructive and degenerative processes in the cellular structures of the joint and their apoptosis [10].

It has been proven that the final products of LPO oxidize the sulfhydryl groups of proteins, can slow down and stop cell division and growth, destabilize biological membranes, including lysosome membranes, activate

Доведено, що кінцеві продукти ПОЛ окиснюють сульфгідрильні групи білків, можуть уповільнювати та припиняти клітинний поділ та ріст, дестабілізувати біологічні мембрани, у тому числі мембрани лізосом, активувати гени p53, bax, bak, bad, bcl-xS та запускати процес апоптозу.

Мета роботи – вивчити дисбаланс маркерів клітинного імунітету як одного з факторів апоптозу у хворих на вторинний остеоартрит залежно від стадії обсягу дегенерації суглобового хряща.

p53, bach, bak, bad, bcl-xS genes and trigger the process of apoptosis.

Objective – to study the imbalance of markers of cellular immunity as one of the factors of apoptosis in patients with secondary osteoarthritis depending on the stage of the amount of articular cartilage degeneration.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні взяли участь 117 хворих віком 19–45 років, які перебували на стаціонарному лікуванні у Artz Klinic (м. Харків) з приводу вторинного ОА колінного суглоба. Діагноз встановлювали згідно з Міжнародною класифікацією хвороби 10-го перегляду (МКХ-10) – М18.1. Контрольну групу склали 25 здорових добровольців. Міжнародним товариством з вивчення остеоартриту (OARSI) запропоновано нову класифікацію, яка дозволяє виділити 4 стадії ураження суглобового хряща від об'єму (%) дегенеративних змін: стадія 1 (< 10%); стадія 2 (10–25%); стадія 3 (25–50%); стадія 4 (> 50%).

Фенотиповий склад лімфоцитів периферичної крові визначали на проточному цитометрі FACS Calibur (Becton Diskinson, США) із залученням моноклональних антитіл до CD_3^+; CD_4^+; CD_8^+; CD_{16}^+; CD_{22}^+ та програмного забезпечення Multi SET.

Клітинний рецептор смерті CD_{95} (він же APO-1 і FAS), і лігандом для FAS є FASL (APO-1L, він же CD_{178}). Розчинний мембранний маркер апоптозу FAS ліганду FASL (CD_{178}), що провокує клітини, які несуть на своїй поверхні FAS-рецептори до апоптозу ферменту, що характеризує ранні стадії ефекторного апоптозу, і перетворює ІЛ-1β, Caspase-1 ICE (ICE-ІЛ-1β Converting Enzyme), та наступної його стадії білка Annexin V (Vac-α); Caspase-3, Caspase-8, в сироватці крові визначали за допомогою ензимозв'язаного ІФА (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) з використанням комерційних наборів Human FAS Ligand ELISA, Human Caspase-8, Human Annexin V ELISA, Human FAS Ligand ELISA (Bender Med Systems GmbH, Austria) згідно з інструкціями виробника на автоматичному імуноферментному аналізаторі Coda (Bio-Rad Laboratories, USA) [2].

Кров для біохімічних та імунологічних досліджень брали вранці, наступного дня після надходження хворого до стаціонару, через 12–18 годин після вживання їжі. Забір крові проводили з ліктьової вени селіконированою голкою, в об'ємі 5 мл у стерильну пробірку типу «Епендорф». Сатистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням IBM SPSS Statistics 22 із визначенням абсолютної величини та її похибки (M ± m, абс.од.). Достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Стьюдента.

Пацієнти були інформовані щодо цілей дослідження та надали свою поінформовану згоду. Дослідження проведено з урахуванням основних положень і відповідно до етичних та морально-правових вимог Статусу Української асоціації з біоетики та нормам GCP і GLP, принципам Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини.

MATERIALS AND METHODS

A study was conducted in 117 patients aged 19 to 45 years who were undergoing inpatient treatment at Artz Klinic (Kharkov) for secondary OA of the knee joint. The diagnosis was established according to the International Classification of Diseases of the 10th revision (ICD-10) – M18.1. The control group consisted of 25 healthy volunteers. The International Society for the Study of Osteoarthritis (OARSI) has proposed a new classification that allows distinguishing 4 stages of articular cartilage damage based on the volume (%) of degenerative changes: stage 1 (< 10%); stage 2 (10–25%); stage 3 (25–50%); stage 4 (> 50%).

The phenotypic composition of peripheral blood lymphocytes was determined on a FACS Calibur flow cytometer (Becton Diskinson, USA) with the involvement of monoclonal antibodies to CD_3^+; CD_4^+; SD_8^+; SD_{16}^+; CD_{22}^+ and Multi SET software.

Cell death receptor CD95 (aka APO-1 and FAS). The ligand for FAS is FASL (APO-1L, aka CD_{178}). Soluble membrane marker of apoptosis FAS ligand FASL (CD_{178}), which provokes cells bearing FAS receptors on their surface to apoptosis of the enzyme that characterizes the early stages of effector apoptosis that converts IL-1β, Caspase-1 ICE (ICE-IL-1β Converting Enzyme), and its next stage protein Annexin V (Vac-α); Caspase-3, Caspase-8, in blood serum was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits Human FAS Ligand ELISA, Human Caspase-8, Human Annexin V ELISA, Human FAS Ligand ELISA (Bender Med Systems GmbH, Austria) according to the manufacturer's instructions on the Coda automatic enzyme immunoassay (Bio-Rad Laboratories, USA) [2].

Blood for biochemical and immunological studies was taken in the morning, the next day after the patient was admitted to the hospital, 12–18 hours after a meal. Blood was collected from the ulnar vein with a siliconized needle in a volume of 5 ml into a sterile Eppendorf tube. Statistical processing of the obtained results was carried out using IBM SPSS Statistics 22 with the determination of the absolute value and its error (M ± m, absolute unit). The reliability of the obtained results was determined according to the Student's criterion.

Patients were informed about the objectives of the study and gave their informed consent. The study was conducted taking into account the main provisions and, accordingly, the ethical and moral and legal requirements of the Status of the Ukrainian Bioethics Association and GCP and GLP norms, the principles of the Helsinki Declaration of Human Rights, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У хворих на вторинний ОА у періоді загострення має місце дисбаланс в клітинній ланці імунітету, підвищення CD8, CD16, CD22 цитотоксичності, що призводить до деструкції біомембран клітиннотканинних структур суглобового хряща та синовіальної оболонки, порушення функції мембранних ферментів та компартменталізації метаболічних процесів з активацією гена p53 апоптозу з подальшою загибеллю клітин суглобового хряща та синовіальної оболонки у даного контингенту хворих [10].

У хворих на вторинний ОА в органах імунної системи відбувається взаємодія антиген-специфічних лімфоцитів з іншими клітинами, які задіяні в імунних реакціях. У процесі диференціювання на мембранах клітин системи імунітету з'являються різні макромолекули – маркери, що відповідають певній стадії розвитку клітинних популяцій. З використанням моноклональних антитіл стало можливим провести кількісний аналіз популяцій клітин крові та класифікувати їх відповідно до наявності поверхневих CD-антигенів (від англ. – clusters of differentiation – кластери диференціювання). Всі вони виконують функції рецепторів адгезинів, після взаємодії з якими всередину клітини поступає сигнал і відбувається її активація, супресія або апоптоз.

Тому нами були проведені дослідження маркерів клітинного імунітету у хворих на вторинний ОА в періоді загострення як можливого фактора активації апоптозу (табл. 1).

RESULTS AND DISCUSSION

In patients with secondary OA, in the period of exacerbation, there is an imbalance in the cellular link of immunity, an increase in CD8, CD16, CD22 cytotoxicity, which leads to the destruction of biomembranes of cellular tissue structures of articular cartilage and synovial membrane, a violation of the function of membrane enzymes and compartmentalization of metabolic processes with activation of the p53 apoptosis gene with subsequent death of articular cartilage and synovial membrane cells in this contingent of patients [10].

In patients with secondary OA, antigen-specific lymphocytes interact with other cells involved in immune reactions in the organs of the immune system. In the process of differentiation, various macromolecules appear on the membranes of cells of the immune system – markers that correspond to a certain stage of development of cell populations. With the use of monoclonal antibodies, it became possible to conduct a quantitative analysis of blood cell populations and classify them according to the presence of surface CD-antigens (from the English – clusters of differentiation – clusters of differentiation). All of them perform the functions of adhesin receptors, after interaction with which a signal enters the cell and its activation, suppression or apoptosis occurs.

Therefore, we conducted studies of markers of cellular immunity in patients with secondary OA in the period of exacerbation as a possible factor in the activation of apoptosis (Table 1).

Таблиця 1. Дані маркерів клітинного імунітету у хворих на вторинний ОА у періоді загострення захворювання залежно від стадії об'єму (%) дегенерації суглобового хряща (M ± m)
Table 1. Data of markers of cellular immunity in patients with secondary OA in the period of exacerbation of the disease depending on the stage of volume (%) of degeneration of articular cartilage (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number of patients	CD_3^+ кл, CD_3^+cell, %	CD_4^+кл, CD_4^+cell, %	CD_8^+кл, CD_8^+cell, %	CD_4 / CD_8	CD_{16}^+кл, CD_{16}^+cell, %	CD_{22}^+кл, CD_{22}^+cell, %
Стадія 1/ Stage 1 (<10%)	23	59,5±1,86	49,3±2,36	26,8±1,63α	1,8	14,2±1,28α	24,6±1,42
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	47,8±3,23	52,8±2,32	21,3±1,57	2,5	19,8±1,46	27,3±1,53
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	40,4±3,12	59,3±3,17	18,7±1,47	3,2	22,7±1,63	29,6±1,47
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	34,3±3,24*	64,2±3,18	13,12±1,29*α	4,8	28,9±1,53*α	32,3±1,85
Здорові донори / Healthy donors	25	68,9±2,43	45,6±1,87	29,5±1,16	1,5	12,4±1,2	22,3±1,3

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно зі здоровими донорами ($p < 0,05$);
α – відмінності достовірні між показниками у хворих у періоді загострення захворювання ($p < 0,05$).

Notes:
* differences are significant compared to healthy donors ($p < 0.05$);
α – significant differences between indicators in patients during the period of exacerbation of the disease ($p < 0.05$).

Як видно з даних таблиці 1, має місце зниження маркерів CD_3^+ у групах хворих 1-ї (< 10%) стадії із зростанням при 3-й і 4-й стадіях дегенерації суглобового хряща, порівняно з показниками групи здорових донорів. Значення цього процесу полягає у тому, що CD_3^+ несуть зрілі (інтактні) Т-лімфоцити антигенспецифічного рецептора (ТКр) в цитоплазму. Антигенспецифічний Т-клітинний рецептор, CD_3^+ та інші корецептори складають комплекс, що розрізняє чужорідний антиген, зв'язаний з молекулами головного комплексу гістосумісності I чи II класу (MHC I або II). Зниження кількості CD3+ клітин, які несуть передачу сигналу та розпізнавання через MHC I або II класу

As can be seen from the data in the table 1, has a decrease in CD3+ markers in the groups of patients with stage 1 (< 10%) with an increase in stages 3 and 4 of articular cartilage degeneration, compared to the indicators of the group of healthy donors. The significance of this process is that CD_3^+ – carry mature (intact) T-lymphocytes antigen-specific receptor (TCr) into the cytoplasm. Antigen-specific T-cell receptor, CD_3^+ and other coreceptors make up a complex that distinguishes foreign antigen bound to molecules of the main histocompatibility complex of class I or II (MHC I or II). A decrease in the number of CD_3^+ cells that transmit a signal and recognize a foreign antigen through MHC

чужорідного антигену, знижує переробку та елімінацію останнього, зокрема у синовіальній рідині, це приводить до підвищення цитотоксичності Т-лімфоцитів та зростання аутоімунного компонента у хворих на вторинний ОА.

Показники CD_4^+ – маркер Т-хелперів мають тенденцію до наростання в групах хворих з 1-ї (< 10%) по 4-ту (> 50%) стадію дегенерації суглобового хряща відносно групи здорових донорів. Це наростання може вказувати на переключення імунної відповіді на аутоімунний компонент до клітинотканинних структур суглобового хряща та синовіальній оболонки у таких пацієнтів.

Зниження маркера CD_8^+ у групах хворих з 1-ї по 4-ту стадії дегенерації суглобового хряща показує порушення регуляторного контролю елімінації антигенного потенціалу та зростання аутоімунного компонента в патогенезі ОА.

На тлі зниження показників CD_8^+ – супресорів має місце активація CD_{16}^+ – маркер натуральних кілерів (NK-клітин), низькоафінного рецептора Fc для IgG III типу. В групах хворих із 1-ю і 2-ю стадією дегенерації суглобового хряща має місце наростання рівня CD_{16}^+ у 1,1–1,6 разу відносно групи здорових донорів, тоді як при 3-й і 4-й стадіях цей показник наростає інтенсивніше в 1,8–2,3 разу відносно групи здорових донорів ($p < 0,05$).

Ці клітини беруть участь в антитілозалежній клітинній цитотоксичності, підвищуючи аутоімунний компонент та апоптоз у клітиннотканинних структурах суглобового хряща та синовіальній оболонки.

Також в 1,4 разу підвищується рівень маркерів CD_{22}^+ у групах хворих із 4-ю стадією (> 50%) дегенерації суглобового хряща відносно групи здорових донорів. Маркери CD_{22}^+ експресовані на зрілих В-лімфоцитах, локалізованих у мигдалинах, молекулах адгезії та беруть участь у негативних реакціях В-клітин. При наявності хронічного запального процесу в мигдалинах, тканина яких за хімічно-антигенним складом близька до клітинно-тканинних структур суглобового хряща та синовіальній оболонки, можуть запускатися процеси апоптозу лімфоцитів, дисбаланс імуноглобулінів: IgA, IgM, IgG, прозапальних цитокінів, зокрема і в синовіальній рідині суглоба.

Треба відмітити, що тривала дія екзогенних та ендогенних факторів, дисбаланс маркерів клітинного імунітету приводить до зсуву співвідношення CD_4/CD_8 вправо за рахунок підвищення кількості CD_4^+ і зниження кількості CD_8^+ у групах хворих з 3-ю (25–50%) і 4-ю (> 50%) стадією дегенерації суглобового хряща. Це притаманно для аутоімунного процесу та активації процесу апоптозу у хворих на вторинний ОА.

У розвитку вторинного ОА лежить хронічне продуктивне запалення, в основі якого одним із патогенетичних механізмів є апоптоз клітинно-тканинних структур суглобового хряща (табл. 2).

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, відзначається достовірне ($p < 0,05$) підвищення CD_{95} FAS/Apo-1 у групі хворих з 3-ю (25–50%) та 4-ю (> 50%) стадією дегенерації суглобового хряща порівняно з групою хворих з 1-ю (< 10%) стадією та контролем. Така сама закономірність відзначається для показників CD_{95} ліганду CD_{95}-L (CD_{178}) у групах з 3-ю (25–50%) та 4-ю (> 50%) стадією дегенерації суглобового хряща, порівняно з хворими з 1-ю (< 10%) стадією

I or II class, which reduces the processing and elimination of the latter, including in the synovial fluid, which leads to an increase in the cytotoxicity of T lymphocytes and an increase in the autoimmune component in patients with secondary OA .

Indicators of CD_4^+ – a marker of T-helpers tend to increase in groups of patients with 1 (< 10%) to 4 (> 50%) stage of articular cartilage degeneration compared to the group of healthy donors. This increase may indicate a switch of the immune response to an autoimmune component to the cell-tissue structures of the articular cartilage and synovial membrane in such patients.

A decrease in the CD8+ marker in groups of patients with stage 1 to stage 4 of articular cartilage degeneration shows a violation of regulatory control over the elimination of antigenic potential and an increase in the autoimmune component in the pathogenesis of OA.

Against the background of a decrease in the indicators of CD_8^+ – suppressors, the activation of CD_{16}^+ – a marker of natural killers (NK cells), a low-affinity Fc receptor for IgG type III. In groups of patients with stage 1 and stage 2 degeneration of articular cartilage, the level of CD_{16}^+ increases by 1.1–1.6 times compared to the group of healthy donors, while at stages 3 and 4 this indicator increases more intensively by 1.8–2.3 times relative to the group of healthy donors ($p<0.05$).

These cells are involved in antibody-dependent cellular cytotoxicity, increasing the autoimmune component and apoptosis in cellular tissue structures of articular cartilage and synovial membrane.

Also, the level of CD_{22}^+ markers increases by 1.4 times in the groups of patients with stage 4 (> 50%) degeneration of articular cartilage compared to the group of healthy donors. CD_{22}^+ markers are expressed on mature B-lymphocytes localized in tonsils, adhesion molecules and participate in negative B-cell reactions. In the presence of a chronic inflammatory process in the tonsils, the chemical and antigenic composition of which is close to the cell-tissue structures of articular cartilage and the synovial membrane, processes of lymphocyte apoptosis, imbalance of immunoglobulins: IgA, IgM, IgG, pro-inflammatory cytokines, including in the synovial fluid of the joint, can be triggered.

It should be noted that the prolonged action of exogenous and endogenous factors, the imbalance of markers of cellular immunity leads to a shift in the ratio of CD_4/CD_8 to the right due to an increase in the number of CD_4^+ and a decrease in the number of CD_8^+ in groups of patients with 3 (25–50%) and 4 (> 50%) stage of articular cartilage degeneration. This is inherent in the autoimmune process and the activation of the apoptosis process in patients with secondary OA.

The development of secondary OA is based on chronic productive inflammation, one of the pathogenetic mechanisms of which is the apoptosis of cellular and tissue structures of articular cartilage (Table 2).

As can be seen from the data given in the table 2 shows a significant ($p < 0.05$) increase in CD_{95} FAS/Apo-1 in the group of patients with 3 (25–50%) and 4 (> 50%) stages of articular cartilage degeneration compared to the group of patients with 1 (< 10%) stage and control. The same pattern is observed for CD_{95} ligand CD_{95} L (CD_{178}) in groups with stage 3 (25–50%) and stage 4 (> 50%) articular cartilage degeneration compared to stage 1 group (< 10%) and controls. This indicates the progression of the chro-

та контролем. Це свідчить про прогресування хронічного рецидивуючого запального процесу у структурах суглобового хряща та синовіальної оболонки за рахунок активації процесу апоптозу та приєднання аутоімунного компонента у патогенезі вторинного ОА.

nic recurrent inflammatory process in the structures of articular cartilage and synovial membrane due to the activation of the apoptosis process and the addition of an autoimmune component in the pathogenesis of secondary OA.

Таблиця 2. Дані маркерів апоптозу у хворих на вторинний ОА у періоді загострення захворювання залежно від стадії об'єму (%) дегенерації суглобового хряща (M ± m)
Table 2. Data of markers of apoptosis in patients with secondary OA in the period of exacerbation of the disease depending on the stage of volume (%), degeneration of articular cartilage (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number of patients	CD_{95} FAS APO-1 (%)	SFASL (CD_{178})
Стадія 1/ Stage 1 (<10%)	23	9,2 ±0,63$^{\alpha}$	11,3±1,26*α
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	14,5±1,47*	13,2±1,35*$^{\alpha}$
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	19,8±1,54*	21,7±2,18*
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	25,7±2,13*$^{\alpha}$	26,9±2,25*$^{\alpha}$
Здорові донори / Healthy donors	25	6,4±0,65	5,3±0,56

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно зі здоровими донорами ($p < 0,05$);
α – відмінності достовірні між показниками у періоді загострення захворювання ($p < 0,05$).
Notes:
* differences are significant compared to healthy donors ($p < 0.05$);
α – significant differences between indicators in the period of exacerbation of the disease ($p < 0.05$).

Процес апоптозу клітинно-тканинних структур суглобового хряща – це ферментативний процес, що залежить від активації каспазного каскаду. Каспази (цистеїн-залежні ендопротеази) спочатку синтезуються як зимоген – мономери з низькою або нульовою активністю. Після активації вони гомодимеризуються. Субстратами каспаз є багато білків, які залучені в запальний процес та апоптоз. Різна участь каспаз в організації клітинної загибелі дозволяє розділити їх на три основні групи: ті, які ініціюють процес запалення (I група), до них належать прозапальні (каспаза 1, 4, 5, 11, 12); індуктори апоптозу (II група) – до них відносяться (каспази 8 та 9) і ефектори апоптозу (каспази 3, 6 та 7). Каспаза 2 може бути як індуктором, і ефектором, і є мішенню для каспаз 3 і 8, які вивільняють цитохром С [5–9].

Залежно від характеру перебігу та стадії патологічного процесу в суглобі можуть з різним ступенем активності реалізувати апоптоз клітиннотканинних структур суглобового хряща, а через утворення апоптичних тілець і фрагментів клітинних структур, які набувають антигенних властивостей, можуть посилювати та підтримувати аутоімунний компонент захворювання.

У зв'язку з цим нами було проведено дослідження каспаз трьох основних груп у періоді загострення захворювання (табл. 3).

Як видно з даних табллиці 3 має місце достовірне ($p < 0,05$) підвищення показника I групи каспаз: каспаза-1 ICE (ICE-ІЛ-1β Converting Enzyme) та наступної його стадії білка Annexin V (Vac-α) у хворих з 3-ю (25–50%) та 4-ю (> 50%) стадією дегенерації суглобового хряща, порівняно з 1-ю (< 10%) стадією в періоді загострення та здорових донорів. Відомо, що активація каспази-1 (I група) відбувається за рахунок продуктів біологічно-активних речовин, прозапальних цитокінів, зокрема кінцевих продуктів перекісного окиснення ліпідів – метаболітів малонового діальдегіду [8, 9]. Annexin V – антикоагулянтний протеїн має виражені антикоагулянтні властивості, що зумовлює його високу спорідненість до аніонних

The process of apoptosis of cellular tissue structures of articular cartilage is an enzymatic process that depends on the activation of the caspase cascade. Caspases (cysteine-dependent endoproteases) are initially synthesized as zymogens – monomers with low or zero activity. After activation, they homodimerize. Substrates of caspases are many proteins that are involved in the inflammatory process and apoptosis. The different participation of caspases in the organization of cell death allows them to be divided into three main groups: those that initiate the inflammatory process (group I), they include proinflammatory ones (caspase 1, 4, 5, 11, 12); apoptosis inducers (II group) – these include (caspases 8 and 9) and apoptosis effectors (caspases 3, 6 and 7). Caspase-2 can be both an inducer and an effector and is a target for caspases 3 and 8, which release cytochrome C [5–9].

Depending on the nature of the course and the stage of the pathological process in the joint, apoptosis of cellular tissue structures of articular cartilage can be implemented with varying degrees of activity, and due to the formation of apoptotic bodies and fragments of cellular structures that acquire antigenic properties, they can strengthen and support the autoimmune component of the disease.

In this connection, we conducted a study of caspases of three main groups during the period of exacerbation of the disease (Table 3).

As can be seen from the data in the table. 3, there is a significant ($p < 0.05$) increase in the indicator of caspase I group: caspase-1 ICE (ICE-IL-1β Converting Enzyme) and its next stage Annexin V protein (Vac-α) in patients with 3 (25–50%) and 4 (> 50%) stage of articular cartilage degeneration compared to 1 (< 10%) stage in the period of exacerbation and healthy donors. As is known, activation of caspase-1 (group I) occurs due to the products of biologically active substances, pro-inflammatory cytokines, including the end products of lipid peroxidation – metabolites of malondialdehyde [8, 9]. Annexin V is an anticoagulant protein with pronounced anticoagulant properties, due to its

фосфоліпідів, перешкоджаючи активним факторам згортання крові, зв'язуючись з фосфоліпідами клітинних мембран (фосфотидимерином), змінюючи потенціал мембрани клітини. Кон'югований Annexin V з флуорохромом на поверхні клітини є маркером ефекторної стадії апоптозу [3].

high affinity for anionic phospholipids, interfering with active blood coagulation factors, binding to phospholipids of cell membranes (phosphotidimerin), changing the potential of the cell membrane. Annexin V conjugated with fluorochrome on the cell surface is a marker of the effector stage of apoptosis [3].

Таблиця 3. Дані маркерів апоптозу у хворих на вторинний ОА у періоді загострення захворювання залежно від стадії об'єму дегенерації суглобового хряща (M ± m)
Table 3. Data of markers of apoptosis in patients with secondary OA in the period of exacerbation of the disease depending on the stage of volume degeneration of articular cartilage (M ± m)

Стадія об'єму дегенерації суглобового хряща Volume stage of articular cartilage degeneration	Кількість хворих Number of patients	Caspase-1, нг/мл ng/ml	Annexin V, нг/мл ng/ml	Caspase-8, нг/мл ng/ml	Caspase-3, нг/мл ng/ml
Стадія 1/ Stage 1 (<10%)	23	10,8±1,14$^{\alpha}$	9,4±1,23$^{\alpha}$	1,6±0,05$^{\alpha}$	12,6±2,16$^{\alpha}$
Стадія 2 / Stage 2 (10–25%)	36	12,7±2,14$^{\alpha}$	13,9±2,14*	3,3±0,07*	16,4±2,37
Стадія 3 / Stage 3 (25–50%)	34	21,5±1,73*	17,8±2,32*	4,2±0,03*	22,9±1,85*
Стадія 4 / Stage 4 (> 50%)	24	25,7±3,12*$^{\alpha}$	22,4±2,25*	6,6±0,09*$^{\alpha}$	28,9±2,37*$^{\alpha}$
Здорові донори / Healthy donors	25	10,2±1,3	6,8±1,6	1,14±0,05	11,43±2,47

Примітки:
* відмінності достовірні порівняно зі здоровими донорами ($p < 0,05$);
α – відмінності достовірні між показниками у періоді загострення захворювання ($p < 0,05$).
Notes:
* differences are significant compared to healthy donors ($p < 0.05$);
α – significant differences between indicators in the period of exacerbation of the disease ($p < 0.05$).

Також показано достовірне ($p < 0,05$) підвищення каспази-8 у хворих із 3-ю та 4-ю стадією дегенерації суглобового хряща, порівняно з 1-ю стадією в періоді загострення та контролем. Каспаза-8 належить до II група індукторів апоптозу розщеплює ефекторні каспази – 3, – 6 та 7. За цим відбувається розщеплення субстратів каспаз, які є сотнями клітинних білків, необхідних для нормального функціонування клітини. Їхнє структурне руйнування призводить до загибелі клітини суглобового хряща та синовіальної оболонки у даних груп хворих [7].

Таким чином, можна вважати, що дисфункція маркерів клітин (CD_3^+, CD_8^+, CD_{16} – NK клітин) вказує на стан мембран ефекторних клітин, які змінюються в залежності від ступеня дегенерації суглобового хряща, що призводить до підвищення їх цитотоксичності, гіперпродукції прозапальних цитокінів та активації генів апоптозу при вторинному ОА.

A significant ($p < 0.05$) increase in caspase 8 was also shown in patients with stage 3 and 4 of articular cartilage degeneration compared to stage 1 in the period of exacerbation and control. Caspase-8 belongs to the II group of apoptosis inducers and cleaves effector caspases – 3, – 6 and 7. This is followed by the cleavage of caspase substrates, which are hundreds of cellular proteins necessary for the normal functioning of the cell. Their structural destruction leads to the death of articular cartilage and synovial membrane cells in these groups of patients [7].

Thus, it can be assumed that the dysfunction of cell markers (CD_3^+, CD_8^+, CD_{16} – NK cells) indicates the state of the membranes of effector cells, which changes depending on the degree of degeneration of articular cartilage, which leads to an increase in their cytotoxicity, hyperproduction of pro-inflammatory cytokines and gene activation apoptosis in secondary OA.

ВИСНОВКИ

У хворих на вторинний ОА залежно від стадії деградації суглобового хряща спостерігається дисбаланс маркерів клітинного імунітету: зниження CD_3^+, підвищення CD_4^+, CD_{16} (NK), супресія CD_8^+; зсув співвідношення CD_4/CD_8 праворуч, що вказує на аутоімунний компонент у патогенезі захворювання.

Зсув співвідношення CD_4/CD_8 праворуч та підвищення цитотоксичної дії CD_{16} (NK) приводить до підвищення ліганду SFASL (CD_{178}) та CD_{95} – мононуклемари та каспаз – 1; 8; 3, що характеризують активацію процесу апоптозу клітинно-тканинних структур суглобового хряща.

CONCLUSIONS

In patients with secondary OA, depending on the stage of articular cartilage degradation, there is an imbalance of markers of cellular immunity: a decrease in CD_3^+, an increase in CD_4^+, CD_{16} (NK), suppression of CD_8^+; a shift in the ratio of CD_4/CD_8 to the right, indicating an autoimmune component in the pathogenesis of the disease.

A shift in the ratio of CD_4/CD_8 to the right and an increase in the cytotoxic effect of CD_{16} (NK) leads to an increase in the ligand SFASL (CD_{178}) and CD_{95} – mononuclemers and caspase – 1; 8; 3, which characterize the activation of the process of apoptosis of cellular structures of articular cartilage.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бородін С., Короткий О., Юет А., Дворщенко К. Перекисне окиснення ліпідів у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після Sars-Cov2-інфекції. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка.* 2022. № 3(90). С. 5–8. DOI: https://doi.org/10.17721/1728.2748.2022.90.5-8
2. Пастер Е.У., Овод Е.В., Позур В.К. Иммунология: практикум. Київ: Вища школа, 1989. С. 330–336.
3. Cavalcante G.C., Schaan A.P., Cabral G.F., Santana-da-Silva M.N., Pinto P., Vidal A.F., Ribeiro-Dos-Santos Â. A Cell's fate: an overview of the molecular biology and genetics of apoptosis. *International journal of molecular sciences.* 2017. № 20(17). 4133 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms20174133
4. Estaquier J., Vallette F., Vayssiere J-L., Mignotte B. The mitochondrial pathways of apoptosis. *Advances in experimental medicine and biology.* 2012. № 942. P. 157–183. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-2869-1_7
5. Galluzzi L., López-Soto A., Kumar S., Kroemer G. Caspases connect cell-death signaling to organismal homeostasis. *Immunity*. 2016. № 44. P. 221–231. DOI: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.020
6. Kumar S., Dorstyn L., Lim Y. The role of caspases as executioners of apoptosis. *Biochemical Society transactions*. 2022. № 50. P. 33–45. DOI: https://doi.org/10.1042/BST20210751
7. Mandal R., Barron J.C., Kostova I., Becker S., Strebhardt K. Caspase-8: the double-edged sword. *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer.* 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188357
8. Ramirez M.L.G., Salvesen G.S. A primer on caspase mechanisms. *Seminars in cell & developmental biology.* 2018. № 82. P. 79–85. DOI: https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.01.002
9. Van Opdenbosch N., Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease. *Immunity*. 2019. № 50. P. 1352–1364. DOI: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.05.020
10. Wojdasiewicz P., Poniatowski L.A., Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediat Inflamm.* 2014. DOI: https://doi.org/10.1155/2014/561459
11. Yang J., Hu S., Bian Y., Yao J., Wang D., Liu X., Guo Z., Zhang S., Peng L. Targeting cell death: pyroptosis, ferroptosis, apoptosis and necroptosis in osteoarthritis. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021. DOI: https://doi.org/10.3389/fcell.2021.789948

REFERENCES

1. Borodin S, Korotkyi O, Yuet A, Dvorschenko K. Lipid peroxidation in synovial fluid of osteoarthritis patients after Sars-Cov2 infection. *Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv.* 2022;3(90):5–8. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.17721/1728.2748.2022.90.5-8
2. Pasteur EU, Ovod EV, Pozur VK. Immunology: practical course. Kyiv: Higher School, 1989:330–6. (In Ukrainian).
3. Cavalcante GC, Schaan AP, Cabral GF, Santana-da-Silva MN, Pinto P, Vidal AF, Ribeiro-Dos-Santos Â. A Cell's fate: an overview of the molecular biology and genetics of apoptosis. *International journal of molecular sciences.* 2017;20(17):4133. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms20174133
4. Estaquier J, Vallette F, Vayssiere J-L, Mignotte B. The mitochondrial pathways of apoptosis. *Advances in experimental medicine and biology*. 2012;942:157–83. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-2869-1_7
5. Galluzzi L, López-Soto A, Kumar S, Kroemer G. Caspases connect cell-death signaling to organismal homeostasis. *Immunity*. 2016;44:221–31. DOI: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.020
6. Kumar S, Dorstyn L, Lim Y. The role of caspases as executioners of apoptosis. *Biochemical Society transactions.* 2022;50:33–45. DOI: https://doi.org/10.1042/BST20210751
7. Mandal R, Barron JC, Kostova I, Becker S, Strebhardt K. Caspase-8: the double-edged sword. *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer*. 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188357
8. Ramirez MLG, Salvesen GS. A primer on caspase mechanisms. *Seminars in cell & developmental biology.* 2018;82:79–85. DOI: https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.01.002
9. Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease. *Immunity*. 2019;50:1352–64. DOI: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.05.020
10. Wojdasiewicz P, Poniatowski LA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediat Inflamm.* 2014. DOI: https://doi.org/10.1155/2014/561459
11. Yang J, Hu S, Bian Y, Yao J, Wang D, Liu X, Guo Z, Zhang S, Peng L. Targeting cell death: pyroptosis, ferroptosis, apoptosis and necroptosis in osteoarthritis. *Frontiers in cell and developmental biology.* 2021. DOI: https://doi.org/10.3389/fcell.2021.789948

Перспективи подальших досліджень

З метою інгібіції ранньої фази апоптозу клітиннотканинних структур суглобового хряща показано додаткове включення до базисної терапії антиоксидантної та імуномодулюючої терапії у даного контингенту хворих, що є перспективою подальших досліджень.

Prospects for further research

By inhibiting the early phase of apoptosis of the tissue tissue structures of the subglobular cartilage, additional inclusion before the basic therapy of antioxidant and immunomodulatory therapy in this contingent of patients is indicated, with the prospect of further investigation.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously certify the absence of actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the provided materials or who sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, медичного факультету, кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування», номер державної реєстрації: 0123U105022, фундаментальна, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

Funding information

The article is a fragment of the planned research work of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process caused by bacteria, viruses, viral – bacterial associations in the acute, protracted and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics», state registration number: 0123U105022, fundamental, implementation period: 2023–2028, head – Head of the Department, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Голуб Олексій Ігорович – аспірант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: o.golub.med@gmail.com
моб.: +38 (063) 499-21-20
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Чернуський В'ячеслав Григорович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua
моб.: +38 (095) 146-36-17
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Летяго Ганна Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри педіатрії медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: letyago@karazin.ua
моб.: +38 (099) 778-37-23
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Павлікова Ксенія В'ячеславівна – кандидат медичних наук, асистент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: k.pavlikova@karazin.ua
моб.: +38 (050) 873-37-08
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Воронкіна Ірина Анатоліївна – кандидат медичних наук, дослідник Інституту мікробіології Медичного факультету Університету Коменського в Братиславі та Університетської лікарні Братислави, вул.Сасінкова, буд. 4, м. Братислава, Словацька Республіка, 81108;
e-mail: voronkina2008@ukr.net
моб.: +42 (129) 011-94-98
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, аналіз та інтерпретація даних.*

Волобуєв Даніїл Олексійович – аспірант кафедри молекулярної та медичної біофізики факультету радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: danalex999@ukr.net
моб.: +38 (099) 259-82-83
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, аналіз та інтерпретація даних.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Golub Oleksiy Ihorovych – Postgraduate student of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: o.golub.med@gmail.com
tel.: +38 (063) 499-21-20
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Chernusky Viacheslav Hryhorovych – Doctors of Medicine Sciences, Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: chernusky@karazin.ua
tel.: +38 (095) 146-36-17
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Letiaho Hanna Volodymyrivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pediatrics V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: letyago@karazin.ua
tel.: +38 (099) 778-37-23
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.*

Pavlikova Ksenia Viacheslavivna – Doctor of Philosophy in Medicine, Assistant Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: k.pavlikova@karazin.ua
tel.: +38 (050) 873-37-08
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.*

Voronkina Iryna Anatoliivna – Candidate of Medical Sciences, Researcher of Institute of Microbiology, Faculty of Medicine, Comenius University Bratislava and University Hospital Bratislava; 4 Sasinkova Str., Bratislava, Slovak Republic, 81108;
e-mail: voronkina2008@ukr.net
tel: +42 (129) 011-94-98
Author's contribution: *concept and design of the study, data analysis and interpretation.*

Volobuiev Daniil Oleksiyovych – Postgraduate student of Department of molecular and medical biophysics, School of Radiophysics, Biomedical Electronics and Computer Systems of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: danalex999@ukr.net
tel: +38 (099) 259-82-83
Author's contribution: *concept and design of the study, data analysis and interpretation.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 19.09.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 13.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 159–174
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):159–174 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-05
УДК: 618.36-008.9:547.962.9

Експресія інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках та плаценті на тлі материнської патології

Зац О.С., https://orcid.org/0000-0003-4005-4428, e-mail: olgse@ukr.net
Шерстюк С.О., https://orcid.org/0000-0001-6062-7962, e-mail: sergeysherstyuk@karazin.ua
Панов С.І., https://orcid.org/0000-0001-9264-0088, e-mail: StanislavPanov@karazin.ua

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

Expression of interstitial collagens in fetal membranes and placenta against the background of maternal pathology

Zats O.S., https://orcid.org/0000-0003-4005-4428, e-mail: olgse@ukr.net
Sherstiuk S.O., https://orcid.org/0000-0001-6062-7962, e-mail: sergeysherstyuk@karazin.ua
Panov S.I., https://orcid.org/0000-0001-9264-0088, e-mail: StanislavPanov@karazin.ua

V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

плацента, фетальні оболонки, колагени, прееклампсія, анемія, хоріоамніоніт, імуногістохімія.

Для кореспонденції:

Панов Станіслав Ігорович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра нормальної анатомії та фізіології людини;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: StanislavPanov@karazin.ua

© Зац О.С., Шерстюк С.О., Панов С.І., 2024.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Проблема вивчення патологічних змін у плаценті на тлі материнських захворювань, таких як анемія, прееклампсія та хоріоамніоніт, є актуальною внаслідок їхнього впливу на розвиток плода і функції плаценти. Незважаючи на значні дослідження, залишається недостатньо вивченою роль склеротичних змін і порушень колагеногенезу в цих умовах.
Мета роботи – визначити експресію інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках та плаценті за наявності материнської патології для оцінки її впливу на стан плодових тканин.
Матеріали та методи. Проведено морфологічний аналіз 58 зразків плацент, розподілених на групи за типом патології (прееклампсія, анемія, хоріоамніоніт) та терміном вагітності. Використовували імуногістохімічне дослідження з непрямим методом Кунса для виявлення колагенів I, III і IV типів.
Результати та їх обговорення. У групах із прееклампсією, анемією та хоріоамніонітом спостерігалося зменшення експресії колагену IV типу в амніотичній оболонці і зниження рівня колагенів I і III типів у стромі ворсин. При хоріоамніоніті виявлено найбільше зменшення рівня експресії, що пов'язане з посиленою деградацією колагену під впливом протеолітичних ферментів запального інфільтрату.
Висновки. Материнські патології спричиняють порушення колагеноутворення у фетальних оболонках і плаценті, що підвищує ризик передчасного розриву плодових оболонок і призводить до склеротичних змін у ворсинах хоріона, особливо при хоріоамніоніті.

Для цитування:

Зац О.С., Шерстюк С.О., Панов С.І. Експресія інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках та плаценті на тлі материнської патології. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 159–174. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-05

Key words:

placenta, fetal membranes, collagens, preeclampsia, anemia, chorioamnionitis, immunohistochemistry.

ABSTRACT

Background. The study of pathological changes in the placenta in cases of maternal diseases, such as anemia, preeclampsia, and chorioamnionitis, is essential due to their impact on fetal development and placental function. Despite extensive research, the role of sclerotic changes and collagenogenesis disorders under these conditions remains insufficiently studied.
Purpose – to determine the expression of interstitial collagens in fetal membranes and placenta in the presence of maternal pathology to assess its impact on fetal tissue.

For correspondence:

Panov Stanislav Ihorovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Human Anatomy and Physiology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: StanislavPanov@karazin.ua

© Zats O.S., Sherstiuk S.O., Panov S.I., 2024

Materials and Methods. A morphological analysis of 58 placenta samples was conducted, divided into groups based on pathology type (preeclampsia, anemia, chorioamnionitis) and pregnancy term. Immunohistochemical analysis using the indirect Coons method was employed to detect collagens of types I, III, and IV.
Results. In groups with preeclampsia, anemia, and chorioamnionitis, decreased expression of type IV collagen in the amniotic membrane and reduced levels of types I and III collagen in villous stroma were observed. Chorioamnionitis showed the most significant decrease in expression levels, associated with enhanced collagen degradation due to proteolytic enzymes in the inflammatory infiltrate.
Conclusions. Maternal pathologies lead to collagen formation disorders in fetal mem-branes and placenta, increasing the risk of premature rupture of fetal membranes and causing sclerotic changes in the chorionic villi, especially in cases of chorioamnionitis.

For citation:

Zats OS, Sherstiuk SO, Panov SI. Expression of interstitial collagens in fetal membranes and placenta against the background of maternal pathology. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):159–174. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-05

ВСТУП

Аналіз наукової літератури стосовно патології плаценти виявив недостатньо інформації у публікаціях, присвячених морфологічним особливостям склеротичних процесів у плаценті при материнській анемії, прееклампсії та хоріоамніоніті. Отже, дана проблема в сучасній патоморфології та перинатології потребує завершального та глибокого наукового дослідження.

У низці досліджень, присвячених морфологічному аналізу плацент у вагітних жінок із залізодефіцитною анемією (ЗДА), виявлено різноманітні адаптивні зміни. Серед них визначається зростання вмісту колагену у стромі ворсин, ішемія та некроз, крововиливи, наявність афункційних ділянок, які, за висновками вчених, можуть призводити до порушення транспортних та трофічних функцій плаценти, а також до гормональної дисфункції зі зниженням естріолу, плацентарного лактогену й прогестерону в сироватці крові вагітних [1].

У проведених дослідженнях, присвячених патоморфологічному аналізу плацент у вагітних із прееклампсією (ПЕ), було виявлено, що у них спостерігаються складні інволютивні зміни [2, 3]. Згідно з літературними даними, структурні трансформації в плаценті наприкінці вагітності, відомі як «ознаки старіння плаценти», охоплюють накопичення фібриноїду й кальцію, дрібноосередкові ішемічні інфаркти, фіброз ворсин, атрофію шару Лангханса, облітерацію судин, інволютивні синцитіальні вузлики, а також компенсаторну васкуляризацію ворсин хоріона [4–6].

Материнсько-плодова інфекція сьогодні залишається однією з глобальних проблем і важливим фактором, який впливає на захворюваність і смертність матері й дитини. За даними ВООЗ внутрішньоутробне інфікування в перинатальному періоді за частотою посідає друге місце, а в структурі перинатальної смертності – перше-третє місце, складаючи від 11% до 45% загиблих [7, 8].

При виявленні вірусної інфекції в системі «матиплацента-плід» у посліді відзначається присутність обмеженого осередкового продуктивного запалення, що залучає до патологічного процесу плодову та материнську частини плаценти [9]. Під час гострої респіраторної вірусної інфекції в сполучній тканині відбувається накопичення значної кількості колагену III типу та кислих глікозаміногліканів. Ці компоненти

INTRODUCTION

Analysis of scientific literature on placental pathology has revealed a significant gap in publications dedicated to the morphological characteristics of sclerotic processes in the placenta in cases of maternal anemia, preeclampsia, and chorioamnionitis. Therefore, this issue in modern pathomorphology and perinatology requires thorough and comprehensive scientific investigation.

In several studies focusing on the morphological analysis of placentas in pregnant women with iron deficiency anemia (IDA), various adaptive changes have been identified. These include increased collagen content in the stroma of the villi, ischemia, necrosis, hemorrhages, and the presence of non-functional areas, which, according to researchers, may lead to disrupted transport and trophic functions of the placenta, as well as hormonal dysfunction, resulting in reduced levels of estriol, placental lactogen, and progesterone in the maternal serum [1].

Studies on the pathomorphological analysis of placentas in pregnant women with preeclampsia (PE) have shown complex involutional changes [2, 3]. According to literature, structural transformations in the placenta at the end of pregnancy, known as «signs of placental aging», include the accumulation of fibrinoid and calcium, small ischemic infarcts, villous fibrosis, Langhans layer atrophy, vascular obliteration, involutional syncytial knots, and compensatory vascularization of chorionic villi [4–6].

Maternal-fetal infections remain a global challenge and a significant factor influencing maternal and infant morbidity and mortality. According to WHO data, intrauterine infections rank second in frequency during the perinatal period and occupy the 1st–3rd position in the structure of perinatal mortality, accounting for 11% to 45% of losses [7, 8].

In cases of viral infection within the «mother-placenta-fetus» system, histological examination reveals focal productive inflammation involving both fetal and maternal parts of the placenta [9]. During acute respiratory viral infection, the connective tissue accumulates a significant amount of type III collagen and acidic glycosaminoglycans. These components separate the villous vessels from the chorionic syncytium and con-

відокремлюють судини ворсинок від контакту з хоріальним симпластом і сприяють пригніченню транспорту продуктів обміну з крові плода до кровоносної системи матері [10, 11].

Мета роботи – визначити експресію інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках та плаценті за наявності материнської патології для оцінки її впливу на стан плодових тканин.

tribute to impaired exchange product transport from fetal to maternal blood [10, 11].

Objective – to determine the expression of interstitial collagens in fetal membranes and the placenta against the backdrop of maternal pathology.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для проведення детального морфологічного аналізу було відібрано 58 послідів, які ретельно розподілені на досліджувані групи з урахуванням патологічних станів жінок, які зазнали складного перебігу вагітності, а також з урахуванням терміну вагітності – випадки недоношеної вагітності на терміні 30–35 тижнів та випадки доношеної вагітності на терміні 36–41 тиждень.

Перша досліджувана група включала 8 випадків недоношеної вагітності з прееклампсією (ПЕН). Друга група – 8 спостережень доношеної вагітності з прееклампсією (ПЕД). Третя група – включала 8 випадків недоношеної вагітності із залізодефіцитною анемією (АН). Четверта група – 8 випадків доношеної вагітності зі залізодефіцитною анемією (АД). П'ята група містила 10 спостережень недоношеної вагітності з хоріоамніонітом (ХАН). Шоста група включала 16 випадків доношеної вагітності з хоріоамніонітом (ХАД). Групу контролю (КГ) становили 8 спостережень фізіологічної вагітності та пологів, завершених народженням живої доношеної дитини.

Імуногістохімічне дослідження (ІГХ) виконували непрямим методом Кунса, на парафінових зрізах завтовшки 5–6×10^{-6} м виявляли інтерстиційні колагени та клітини-продуценти ІЛ-6 за допомогою моноклональних антитіл (МАТ) до колагенів I, III і IV типів (Novocastra Laboratories Ltd, UK). Як люмінесцентну мітку використовували Fab-2-фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші, які були мічені ФІТЦ (флуоресцеїну ізотіоціанат). Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі «Axioskor 40» (Carl Zeiss, ФРН). Визначення оптичної щільності імунофлуоресценції колагену I, III і IV типів проводили за допомогою методу Губіної-Вакулік Г.І. і співавт. [5] і позначали в умовних одиницях світіння (ум. од. св.). Дослідження матеріалу автопсій проводилося відповідно до вимог «Інструкції про проведення розтинів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 6 від 17.01.1995); відповідно до вимог, норм та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.; «Порядку вилучення біологічних об'єктів у померлих, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі і патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей» (2018).

MATERIALS AND METHODS

To conduct a detailed morphological analysis, 58 placentas were selected and carefully distributed into study groups based on pathological conditions experienced by women with complicated pregnancies, as well as the gestational age – cases of preterm pregnancy at 30–35 weeks and full-term pregnancy at 36–41 weeks.

The first study group included 8 cases of preterm pregnancies with preeclampsia (PEP). The second group comprised 8 observations of full-term pregnancies with preeclampsia (PET). The third group included 8 cases of preterm pregnancies with iron deficiency anemia (AP). The fourth group consisted of 8 cases of full-term pregnancies with iron deficiency anemia (AD). The fifth group contained 10 observations of preterm pregnancies with chorioamnionitis (CAP). The sixth group included 16 cases of full-term pregnancies with chorioamnionitis (CAT). The control group consisted of 8 cases of physiological pregnancies and deliveries resulting in the birth of a live, full-term fetus.

Immunohistochemical (IHC) analysis was performed using the indirect Coons method on paraffin sections 5–6 μm thick to detect interstitial collagens and IL-6-producing cells with monoclonal antibodies (MAbs) to type I, III, and IV collagens (Novocastra Laboratories Ltd, UK). Fab-2 fragments of rabbit antibodies against mouse immunoglobulins labeled with FITC (fluorescein isothiocyanate) were used as the fluorescent marker. Preparations were examined under an «Axioskor 40» fluorescent microscope (Carl Zeiss, Germany). Optical density of collagen type I, III, and IV immunofluorescence was determined using the method of Gubina-Vakulik G.I. et al. [5] and expressed in conventional fluorescence units.

Autopsy material research was conducted in compliance with the requirements of the «Instructions on conducting autopsies» (Order of the Ministry of Health of Ukraine № 6 dated January 17, 1995), ethical norms and standards (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 dated September 23, 2009), and «Procedure for retrieving biological objects from deceased individuals for scientific purposes» (2018).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які знаходилися в мезодермі амніона, стромі хоріона й децидуальній оболонці.

У компактному шарі амніона спостерігалося безперервне інтенсивне світіння інтерстиційних колагенів обох типів, у всіх інших зонах воно було менш вираженим (рис. 1). Колаген IV типу виявлявся лише

RESULTS AND DISCUSSION

IHC studies revealed interstitial collagens of types I and III, identified in the mesoderm of the amnion, stroma of the chorion, and decidual membrane.

In the compact layer of the amnion, continuous intense fluorescence of interstitial collagens of both types was observed, whereas in other zones, the fluorescence was less pronounced (Fig. 1). Type IV collagen was detected

в базальній мембрані епітелію амніона у вигляді лінійного безперервного помірного світіння.

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі представлені в таблиці 1.

only in the basal membrane of the amnion epithelium as a linear, continuous, moderate fluorescence.

The morphometric study data on the optical density of interstitial collagen immunofluorescence in the study group are presented in Table 1.

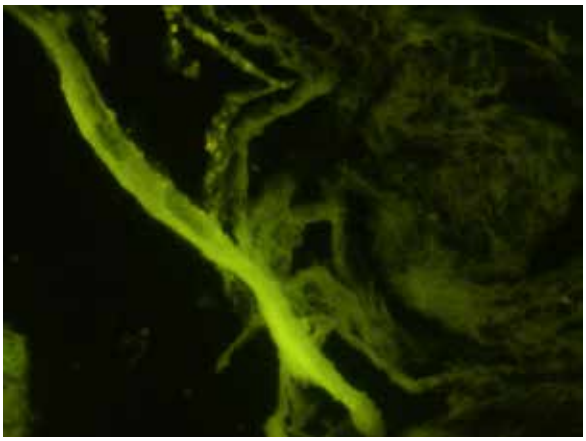

Рис. 1. Плодова оболонка посліду групи КГ. Інтенсивне світіння колагену I типу в фетальних оболонках. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×100
Fig. 1. Fetal membrane of the placenta from the CG group. Intense fluorescence of type I collagen in the fetal membranes. Indirect Coons method with MAbs to type I collagen, ×100

Таблиця 1. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи КГ, ум. од. св. (M ± m)
Table 1. Optical Density of Interstitial Collagen Immunofluorescence Intensity in the Fetal Membranes of the CG Group, Conventional Fluorescence Units (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0,849±0.014	0,739±0,005	0,792±0,024
Колаген III / Collagen III	0,826±0.023	0,759±0,006	0,803±0,025
Колаген IV / Collagen IV	0,102±0,006	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися у стромі ворсин і мали світіння осередкового та лінійного характеру (рис. 2). Колаген IV типу виявлявся в базальній мембрані судин ворсин синцитіотрофобласту та мав вигляд лінійного безперервного помірного світіння. У базальній мембрані судин великих ворсин відмічалося слабке осередкове світіння колагену III типу.

IHC analysis revealed interstitial collagens of types I and III, located in the stroma of the villi, exhibiting focal and linear fluorescence patterns (Fig. 2). Type IV collagen was detected in the basal membrane of the villous syncytiotrophoblast vessels, presenting as linear, continuous, moderate fluorescence. In the basal membrane of the vessels in large villi, weak focal fluorescence of type III collagen was observed.

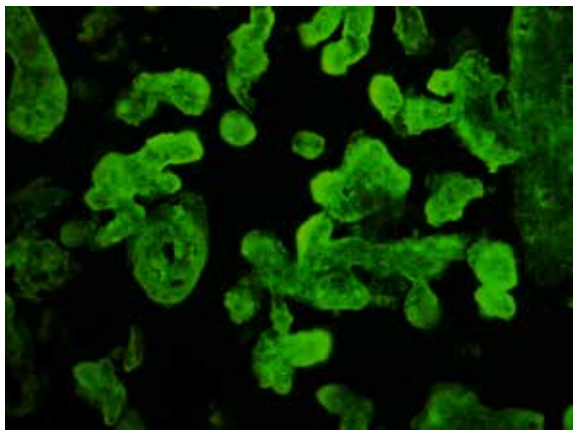

Рис. 2. Плацента групи КГ. Світіння колагену III типу в стромі ворсинчастого хоріона. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену III типу, ×200
Fig. 2. Placenta from the CG group. Fluorescence of type III collagen in the stroma of the villous chorion. Indirect Coons method with MAbs to type III collagen, ×200

Середні значення оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у ворсинах групи КГ подано в таблиці 2.

The mean optical density values of interstitial collagen immunofluorescence in the villous chorion of the CG group are presented in Table 2.

Таблиця 2. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи КГ (M ± m)
Table 2. Optical Density of Interstitial Collagen Fluorescence Intensity in the Villous Chorion of the Placenta from the CG Group (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник, ум. од. св / Value, Conventional Units (CU)
Колаген I / Collagen I	0,121±0.004
Колаген III / Collagen III	0,226±0.003
Колаген IV / Collagen IV	0,111±0,007

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в мезодермі амніона, стромі хоріона й децидуальній оболонці. Колагени I і III типів мали помірне світіння з осередковим посиленням імунофлуоресценції (рис. 3). Колаген IV типу виявлявся як лінійне безперервне слабке світіння в базальній мембрані амніотичного епітелію.

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі подано в таблиці 3.

IHC analysis revealed interstitial collagens of types I and III located in the mesoderm of the amnion, stroma of the chorion, and the decidual membrane. Types I and III collagens exhibited moderate fluorescence with focal intensification of immunofluorescence (Fig. 3). Type IV collagen was observed as linear, continuous weak fluorescence in the basal membrane of the amniotic epithelium.

The morphometric study data on the optical density of interstitial collagen immunofluorescence in the study group are presented in Table 3.

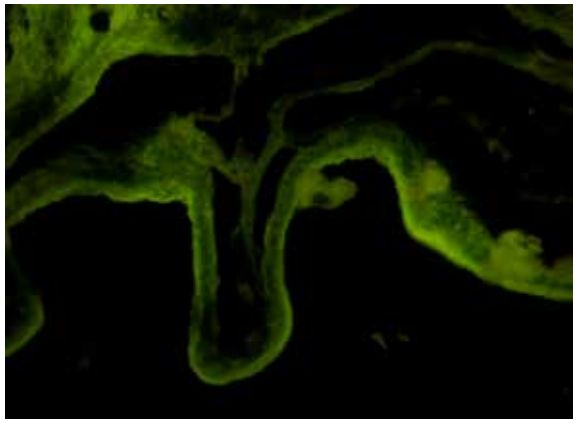

Рис. 3. Плодові оболонки посліду групи ПЕН. Експресія колагену I типу в плодових оболонках. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×400
Fig. 3. Fetal membranes of the placenta from the PEN group. Expression of type I collagen in the fetal membranes. Indirect Coons method with MAbs to type I collagen, ×400

Таблиця 3. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи ПЕН, ум. од. св., (M ± m)
Table 3. Optical Density of Interstitial Collagen Immunofluorescence Intensity in the Fetal Membranes of the PEN Group, Conventional Fluorescence Units (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0,636±0,021	0,537±0,024	0,631±0,023
Колаген III / Collagen III	0,684±0,022	0,623±0,027	0,685±0,009
Колаген IV / Collagen IV	0,052±0,006	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися у стромі ворсин і мали вигляд світіння осередкового та лінійного типу (рис. 4). Колаген IV типу виявлявся лише в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобласту та мав вигляд лінійного безперервного слабкого світіння. У базальній мембрані судин великих ворсин виявлялося слабке осередкове світіння колагену III типу.

Середні значення оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у ворсинах групи ПЕН подано в таблиці 4.

IHC analysis revealed interstitial collagens of types I and III located in the stroma of the villi, exhibiting focal and linear fluorescence patterns (Fig. 4). Type IV collagen was observed only in the basal membrane of villous vessels and syncytiotrophoblasts, appearing as linear, continuous weak fluorescence. In the basal membrane of large villous vessels, weak focal fluorescence of type III collagen was detected.

The mean optical density values of interstitial collagen immunofluorescence in the villous chorion of the PEN group are presented in Table 4.

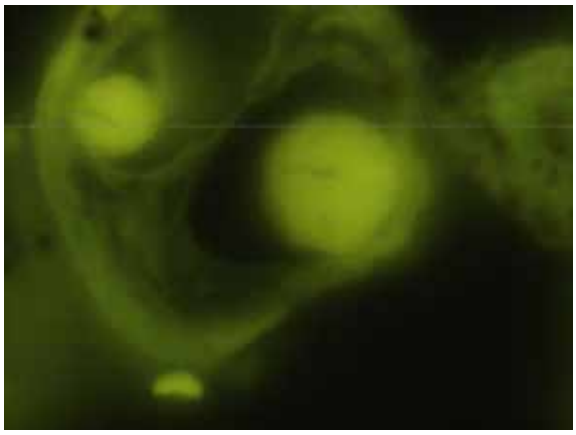

Рис. 4. Плацента групи ПЕН. Світіння колагену IV типу в базальній мембрані синцитіального епітелію та судин ворсин. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену IV типу, ×1000
Fig. 4. Placenta from the PEN group. Fluorescence of type IV collagen in the basal membrane of syncytial epithelium and villous vessels. Indirect Coons method with MAbs to type IV collagen, ×1000

Таблиця 4. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи ПЕН, ум. од. св., (M ± m)
Table 4. Optical Density of Interstitial Collagen Fluorescence Intensity in the Villous Chorion of the Placenta from the PEN Group, Conventional Fluorescence Units (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник / Value
Колаген I / Collagen I	0,088±0,009
Колаген III / Collagen III	0,198±0,011
Колаген IV / Collagen IV	0,074±0,007

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в мезодермі амніона, стромі хоріона й децидуальній оболонці та мали вигляд помірного світіння з осередковим посиленням імунофлуоресценції (рис. 5). В амніоні виявлялася більш інтенсивна флуоресценція колагену I типу, а у хоріоні та децидуальній оболонці – III типу. Колаген IV типу виявлявся як лінійне безперервне помірне світіння в базальній мембрані амніотичного епітелію. Крім того, у базальній мембрані амніона виявлялося осередкове накопичення колагену III типу.

IHC analysis revealed interstitial collagens of types I and III located in the mesoderm of the amnion, stroma of the chorion, and the decidual membrane, showing moderate fluorescence with focal intensification of immunofluorescence (Fig. 5). In the amnion, more intense fluorescence of type I collagen was observed, while in the chorion and decidual membrane, type III collagen predominated. Type IV collagen was detected as linear, continuous moderate fluorescence in the basal membrane of the amniotic epithelium. Additionally, focal accumulation of type III collagen was observed in the basal membrane of the amnion.

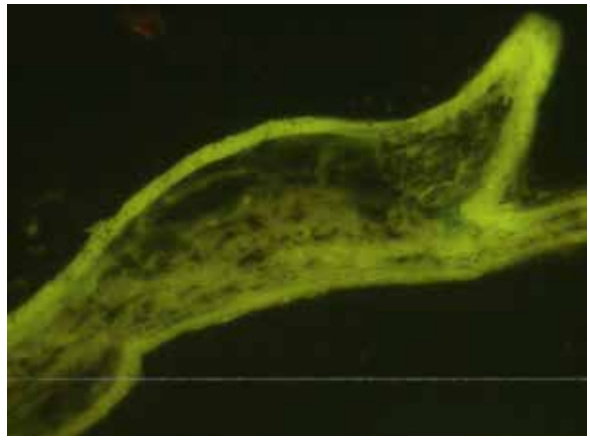

Рис. 5. Плодові оболонки посліду групи ПЕД. Експресія колагену I типу в плодових оболонках. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×400
Fig. 5. Fetal membranes of the placenta from the PED group. Expression of type I collagen in the fetal membranes. Indirect Coons method with MAbs to type I collagen, ×400

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі подано в таблиці 5.

The morphometric study data on the optical density of interstitial collagen immunofluorescence in the study group are presented in Table 5.

Таблиця 5. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи ПЕД, ум. од. св., (M ± m)
Table 5. Optical Density of Interstitial Collagen Immunofluorescence Intensity in the Fetal Membranes of the PED Group, Conventional Fluorescence Units (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0.730±0.013	0,702±0,022	0,712±0,028
Колаген III / Collagen III	0,688±0,014	0,811±0,015	0,838±0,027
Колаген IV / Collagen IV	0,075±0,003	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися у стромі ворсин і мали вигляд світіння осередкового й лінійного типів. Колаген IV типу виявлявся в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобластуа та мав вигляд лінійного безперервного інтенсивного або помірного світіння (рис. 6). У базальній мембрані судин великих ворсин виявлялося осередкове світіння колагену III типу.

Середні значення оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у ворсинах групи ПЕД подано в таблиці 6.

IHC analysis revealed interstitial collagens of types I and III located in the stroma of the villi, displaying focal and linear fluorescence patterns. Type IV collagen was detected in the basal membrane of villous vessels and syncytiotrophoblasts, appearing as linear, continuous fluorescence of either intense or moderate levels (Fig. 6). In the basal membrane of large villous vessels, focal fluorescence of type III collagen was observed.

The average values of optical density of interstitial collagen immunofluorescence in the villi of the PED group are presented in Table 6.

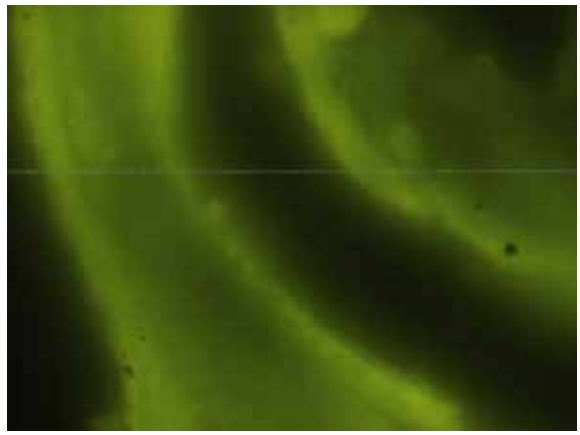

Рис. 6. Плацента групи ПЕД. Світіння колагену IV типу в базальній мембрані синцитіального епітелію та судин ворсин. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену IV типу, ×1000
Fig. 6. Placenta from the PED group. Fluorescence of type IV collagen in the basal membrane of syncytial epithelium and villous vessels. Indirect Coons method with MAbs to type IV collagen, ×1000

Таблиця 6. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи ПЕД, ум. од. св., (M ± m)
Table 6. Optical Density of Interstitial Collagen Fluorescence Intensity in the Villous Chorion of the Placenta from the PED Group, Conventional Fluorescence Units (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник / Value
Колаген I / Collagen I	0,211±0,007
Колаген III / Collagen III	0,344±0,004
Колаген IV / Collagen IV	0,206±0,007

ІГХ дослідження групи АН виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в амніотичній мезодермі, стромі хоріона й децидуальній оболонці. Колагени I і III типів мали помірне світіння з осередковим посиленням імунофлуоресценції (рис. 7). Колаген IV типу мав лінійне безперервне слабке світіння в базальній мембрані амніотичного епітелію.

IHC analysis revealed interstitial collagens of types I and III located in the amniotic mesoderm, chorionic stroma, and decidual layer. Types I and III collagen exhibited moderate fluorescence with focal intensification (Fig. 7). Type IV collagen showed weak linear, continuous fluorescence in the basal membrane of the amniotic epithelium.

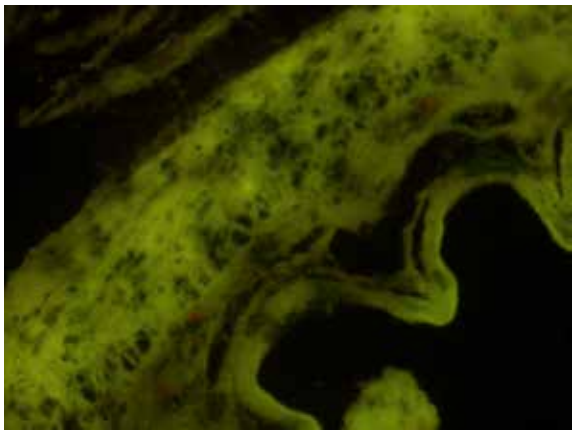

Рис. 7. Плодові оболонки посліду групи АН. Помірне з осередковим посиленням світіння колагену III типу в фетальних оболонках і децидуальній оболонці. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену III типу, ×400
Fig. 7. Fetal membranes of the placenta in the AN group. Moderate focal enhancement of collagen type III fluorescence in the fetal membranes and decidual membrane. Indirect Kun's method with MAB to collagen type III, ×400

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлюоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі подано в таблиці 7.

Morphometric data of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the studied group are presented in Table 7.

Таблиця 7. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи АН, ум. од. св., (M ± m)
Table 7. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the fetal membranes of the AN group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0,637±0,0042	0,530±0,024	0,620±0,034
Колаген III / Collagen III	0,684±0,022	0,648±0,003	0,625±0,027
Колаген IV / Collagen IV	0,052±0,006	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в стромі ворсин та мали вигляд світіння осередкового й лінійного характеру (рис. 8). Колаген IV типу виявлявся лише в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобласту у вигляді лінійного безперервного слабкого світіння. У базальній мембрані судин великих ворсин спостерігалося слабке осередкове світіння колагену III типу.

Середні значення оптичної щільності імунофлюоресценції інтерстиційних колагенів у ворсинах групи АН подано в таблиці 8.

Immunohistochemical (IHC) study revealed interstitial collagens of types I and III, located in the stroma of the villi, showing focal and linear fluorescence (Fig. 8). Collagen IV was found only in the basal membrane of the villous vessels and syncytiotrophoblast, displaying a linear, continuous, weak fluorescence. Focal weak fluorescence of collagen III was observed in the basal membrane of large villous vessels.

The average values of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the villi of the AN group are presented in Table 8.

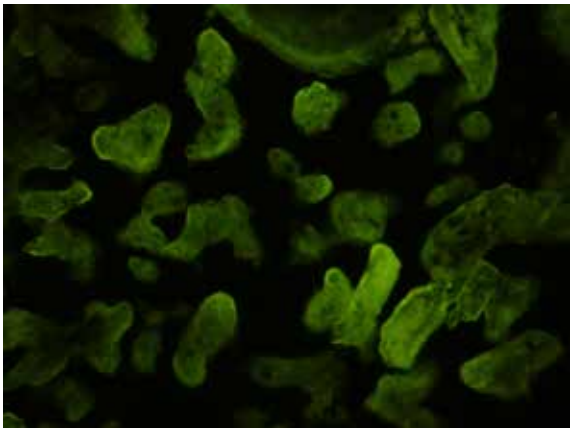

Рис. 8. Плацента групи АН. Світіння колагену I типу у стромі ворсин. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×100
Fig. 8. Placenta of the AN group. Collagen type I fluorescence in the stroma of the villi. Indirect Kun's method with MAB to collagen type I, ×100

Таблиця 8. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи АН, ум. од. св., (M ± m)
Table 8. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the villous chorion of the placenta in the AN group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник / Value
Колаген I / Collagen I	0,088±0,009
Колаген III / Collagen III	0,198±0,011
Колаген IV / Collagen IV	0,074±0,007

ІГХ дослідження групи АД виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в амніотичній мезодермі, стромі хоріона та децидуальній оболонці. Колагени I і III типів виявлялися у вигляді помірного світіння з осередковим посиленням імунофлуоресценції (рис. 9). В амніоні переважала інтенсивність світіння колагену I типу, а у хоріоні та децидуальній оболонці – III типу. Колаген IV типу виявлявся у вигляді лінійного безперервного слабкого світіння в базальній мембрані епітелію амніона. Також у базальній мембрані епітелію амніона спостерігалося осередкове світіння колагену III типу.

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі подано в таблиці 9.

Immunohistochemical (IHC) study revealed interstitial collagens of types I and III, located in the amniotic mesoderm, the stroma of the chorion, and the decidual membrane. Collagens of types I and III were found to have moderate fluorescence with focal intensification of immunofluorescence (Fig. 9). In the amnion, collagen type I fluorescence intensity predominated, while in the chorion and decidual membrane, it was predominantly type III. Collagen type IV was found as a continuous linear weak fluorescence in the basal membrane of the amniotic epithelium. Additionally, focal fluorescence of collagen type III was observed in the basal membrane of the amniotic epithelium.

The average values of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the studied group are presented in Table 9.

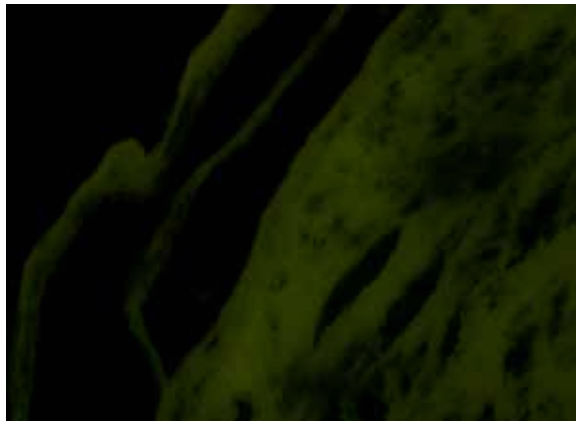

Рис. 9. Плодові оболонки посліду групи АД. Слабке світіння колагену III типу в фетальних та децидуальній оболонці. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену III типу, ×100
Fig. 9. Fetal membranes of the placenta in the AD group. Weak fluorescence of collagen type III in the fetal and decidual membranes. Indirect Kun's method with MAB to collagen type III, ×100

Таблиця 9. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи АД, ум. од. св., (M ± m)
Table 9. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the fetal membranes of the AD group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0,764±0,015	0,724±0,024	0,738±0,014
Колаген III / Collagen III	0,736±0,020	0,746±0,025	0,820±0,010
Колаген IV / Collagen IV	0,085±0,002	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися у стромі ворсин у вигляді помірного або інтенсивного світіння осередкового та лінійного характеру (рис. 10). Колаген IV типу виявлявся в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобласту у вигляді лінійного безперервного слабкого або помірного світіння. У базальній мембрані судин великих ворсин виявлялося осередкове світіння колагену III типу.

Immunohistochemical (IHC) study revealed interstitial collagens of types I and III, located in the stroma of the villi, with moderate or intense fluorescence, either focal or linear in nature (Fig. 10). Collagen type IV was found in the basal membrane of the vessels of the villi and syncytiotrophoblast, displaying continuous linear weak or moderate fluorescence. In the basal membrane of the vessels of the large villi, focal fluorescence of collagen type III was observed.

Середні значення оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у ворсинах групи АД подано в табл. 10.

The average values of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the villi of the AD group are presented in Table 10.

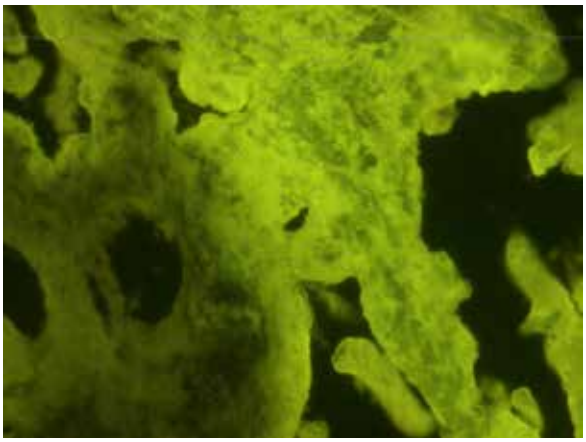

Рис. 10. Плацента групи АД. Інтенсивне світіння колагену I типу у стромі стовбурових ворсин. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×400
Fig. 10. Placenta of the AD group. Intense fluorescence of collagen type I in the stroma of stem villi. Indirect Kun's method with MAB to collagen type I, ×400

Таблиця 10. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи АД, ум. од. св., (M ± m)
Table 10. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the villous chorion of the placenta in the AD group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник / Indicator
Колаген I / Collagen I	0,234±0,011
Колаген III / Collagen III	0,260±0,012
Колаген IV / Collagen IV	0,185±0,008

ІГХ дослідження групи ХАН виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в амніотичній мезодермі, стромі хоріона та децидуальній оболонці. Колагени I і III типів виявлялися у вигляді нерівномірного світіння з перевагою колагену III типу (рис. 11.). Колаген IV типу виявлявся лише в базальній мембрані амніотичного епітелію у вигляді слабкої інтенсивності переривчастого світіння.

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі подано в таблиці 11.

IHC study revealed interstitial collagens of types I and III, located in the amniotic mesoderm, chorion stroma, and decidual membrane. Collagens I and III exhibited uneven fluorescence, with a predominance of collagen type III (Fig. 11). Collagen IV was found only in the basal membrane of the amniotic epithelium, showing weak intensity of discontinuous fluorescence.

The average values of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the studied group are presented in Table 11.

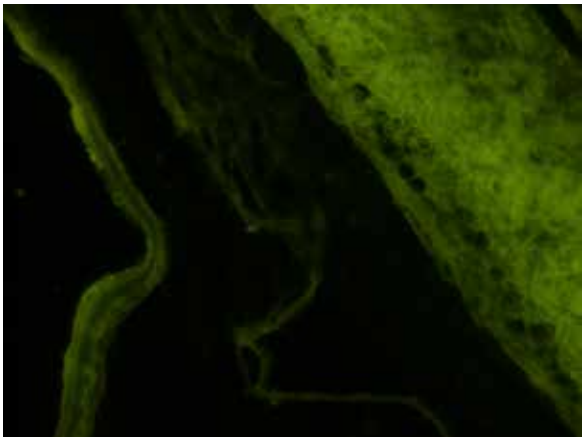

Рис. 11. Плодові оболонки посліду групи ХАН. Нерівномірне світіння колагену I типу в плодових оболонках. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×200
Fig. 11. Fetal membranes of the placenta in the HAN group. Uneven fluorescence of collagen type I in the fetal membranes. Indirect Kun's method with MAB to collagen type I, ×200

Таблиця 11. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи ХАН, ум. од. св., (M ± m)
Table 11. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the fetal membranes of the HAN group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0,637±0,0042	0,531±0,033	0,557±0,031
Колаген III / Collagen III	0,684±0,022	0,597±0,019	0,648±0,010
Колаген IV / Collagen IV	0,038±0,003	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися у стромі ворсин у вигляді світіння осередкового та лінійного типів. Колаген IV типу виявлявся в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобласту у вигляді лінійного безперервного слабкого світіння. У базальній судинній мембрані великих ворсин виявлялося слабке осередкове світіння колагену III типу.

Середні значення оптичної щільності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинах групи ХАН подано в таблиці 12.

IHC study revealed interstitial collagens of types I and III, which were located in the stroma of villi, exhibiting focal and linear fluorescence. Collagen IV was found in the basal membrane of the villous vessels and syncytiotrophoblast as continuous weak linear fluorescence. In the basal vessel membrane of large villi, weak focal fluorescence of collagen type III was observed.

The average values of optical density of fluorescence of interstitial collagens in the villi of the control group are presented in Table 12.

Таблиця 12. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи ХАН, ум. од. св., (M ± m)
Table 12. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the villous chorion of the placenta in the HAN group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник / Indicator
Колаген I / Collagen I	0,111±0,003
Колаген III / Collagen III	0,331±0,013
Колаген IV / Collagen IV	0,107±0,003

ІГХ дослідження групи ХАД виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в амніотичній мезодермі, стромі хоріона та децидуальній оболонці. Колагени I і III типів виявлялися у вигляді нерівномірного світіння з перевагою колагену III типу в амніоні та I типу в хоріоні й децидуальній оболонці (рис. 12). Колаген IV типу виявлявся лише в базальній мембрані амніотичного епітелію у вигляді помірного, рідше інтенсивного переривчастого світіння. Крім того, у базальній мембрані амніотичного епітелію спостерігалося осередкове світіння колагену III типу.

IHC study revealed interstitial collagens of types I and III, which were located in the amniotic mesoderm, chorion stroma, and decidual membrane. Collagens I and III exhibited uneven fluorescence, with a predominance of collagen type III in the amnion and type I in the chorion and decidual membrane (Fig. 12). Collagen IV was found only in the basal membrane of the amniotic epithelium, showing moderate, occasionally intense, discontinuous fluorescence. Additionally, focal fluorescence of collagen type III was observed in the basal membrane of the amniotic epithelium.

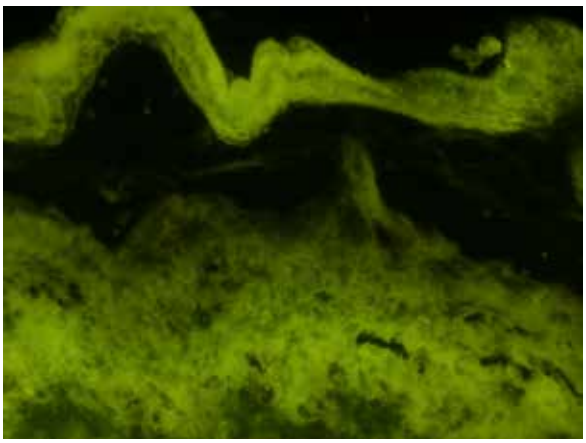

Рис. 12. Плодові оболонки посліду групи ХАД. Помірне світіння колагену I типу в амніотичній мезодермі. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену I типу, ×200
Fig. 12. Fetal membranes of the placenta in the HAD group. Moderate fluorescence of collagen type I in the amniotic mesoderm. Indirect Kun's method with MAB to collagen type I, ×200

Дані морфометричного дослідження оптичної щільності імунофлюоресценції інтерстиційних колагенів у досліджуваній групі подано в таблиці 13.

The average values of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the studied group are presented in Table 13.

Таблиця 13. Оптична щільність інтенсивності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках групи ХАД, ум. од. св., (M ± m)
Table 13. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the fetal membranes of the HAD group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Амніон / Amnion	Хоріон / Chorion	Децидуа / Decidua
Колаген I / Collagen I	0,667±0,025	0,685±0,011	0,690±0,004
Колаген III / Collagen III	0,637±0,042	0,710±0,018	0,764±0,012
Колаген IV / Collagen IV	0,065±0,002	–	–

ІГХ дослідження виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в стромі ворсин у вигляді світіння осередкового та лінійного типу з перевагою інтенсивності світіння колагену III типу (рис. 13). Колаген IV типу виявлявся в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобласту у вигляді лінійного безперервного помірного світіння. У базальній судинній мембрані великих ворсин і субепітеліальних базальних мембранах виявлялося помірне або слабке осередкове світіння колагену III типу.

Середні значення оптичної щільності імунофлюоресценції інтерстиційних колагенів у ворсинах групи ХАД подано в таблиці 14.

IHC study revealed interstitial collagens of types I and III, which were located in the stroma of the villi, exhibiting focal and linear fluorescence with a predominance of collagen type III fluorescence intensity (Fig. 13). Collagen IV was found in the basal membrane of the villous vessels and syncytiotrophoblast as continuous moderate linear fluorescence. In the basal vessel membrane of large villi and subepithelial basal membranes, moderate or weak focal fluorescence of collagen type III was observed.

The average values of optical density and immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the villi of the control group are presented in Table 14.

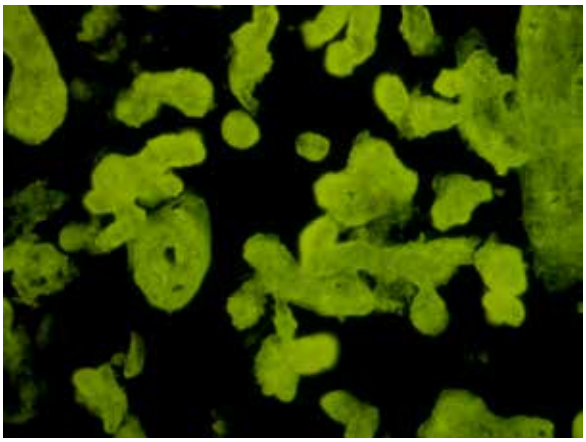

Рис. 13. Плацента групи ХАД. Інтенсивне світіння колагену III типу в стромі ворсин хоріона. Непрямий метод Кунса з МАТ до колагену III типу, ×100
Fig. 13. Placenta of the HAD group. Intense fluorescence of collagen type III in the stroma of the chorionic villi. Indirect Kun's method with MAB to collagen type III, ×100

Таблиця 14. Оптична щільність інтенсивності світіння інтерстиційних колагенів у ворсинчастому хоріоні плаценти групи ХАД, ум. од. св., (M ± m)
Table 14. Optical density of immunofluorescence intensity of interstitial collagens in the chorionic villi of the placenta in the HAD group, rel. units of fluorescence (M±m)

Тип колагену / Type of Collagen	Показник / Indicator
Колаген I / Collagen I	0,337±0,005
Колаген III / Collagen III	0,433±0,005
Колаген IV / Collagen IV	0,224±0,004

ІГХ дослідження розподілу колагенів у всіх клінічних групах та групі КГ виявило інтерстиційні колагени I і III типів, які розташовувалися в компактному шарі, шарі фібробластів і губчастому шарі амніона. Колаген IV типу виявлявся в базальній мембрані

IHC study of collagen distribution in all clinical groups and the control group revealed interstitial collagens of types I and III, which were located in the compact layer, fibroblast layer, and spongy layer of the amnion. Collagen IV was found in the basal membrane of the

амніотичного епітелію. У групах ПЕН, АН, ХАН та КГ характер імунофлюоресценції був безперервним, а у групах ПЕД, АД та ХАД – переривчастим. В останніх групах у складі базальної мембрани також виявлявся колаген III типу, який мав вигляд дрібногранулярного неяскравого світіння.

Згідно з даними таблиці 15, у всіх клінічних групах з недоношеною вагітністю рівні експресії маркерів колагенів I і III типів в амніотичній мезодермі та колагену IV типу в базальній мембрані амніотичного епітелію були достовірно нижчими порівняно зі значеннями цих показників в аналогічних групах із доношеною вагітністю та групи КГ. У групах ПЕД, АД і ХАД рівні експресії всіх типів колагенів були також статистично значуще нижче за аналогічні показники в групі КГ, причому найменші значення рівня світіння колагенів I і III типів реєструвалися у групах з хоріоамніонітом.

amniotic epithelium. In the PEN, AN, HAN, and CG groups, the pattern of immunofluorescence was continuous, whereas in the PED, AD, and HAD groups, it was discontinuous. In the latter groups, collagen III was also found in the basal membrane, showing a fine granular, faint fluorescence.

According to Table 15, in all clinical groups with preterm pregnancy, the levels of expression of collagen types I and III in the amniotic mesoderm and collagen IV in the basal membrane of the amniotic epithelium were significantly lower compared to the values in the corresponding groups with term pregnancy and the CG group. In the PED, AD, and HAD groups, the expression levels of all collagen types were also statistically significantly lower than in the CG group, with the lowest values of collagen types I and III fluorescence observed in the groups with chorioamnionitis.

Таблиця 15. Морфометричні показники імуногістохімічних реакцій в амніоні у клінічних і контрольній групах (M ± m)
Table 15. Morphometric indicators of immunohistochemical reactions in the amnion in clinical and control groups (M±m)

Група / Group	Рівень експресії колагену III типу в амніотичній мезодермі, ум. од. св. Collagen III expression in amniotic mesoderm, rel. units of fluorescence	Рівень експресії колагену IV типу в базальній мембрані амніотичного епітелію, ум. од. св. Collagen IV expression in basal membrane of amniotic epithelium, rel. units of fluorescence
ПЕН / PEN, (n=8)	0,684±0,022#	0,052±0,006#
ПЕД / PED, (n=8)	0,688±0,014*#	0,075±0,003*#
АН / AN, (n=8)	0,658±0,022#	0,058±0,005#
АД / AD, (n=8)	0,736±0,020*#	0,085±0,002*#
ХАН / HAN, (n=10)	0,615±0,018#	0,038±0,003#
ХАД / HAD, (n=16)	0,637±0,042*#	0,065±0,002*#
КГ / CG, (n=8)	0,826±0,023	0,102±0,006

Примітка:
* значимість відмінностей між групами з недоношеною і доношеною вагітністю у разі аналогічної патології, p < 0,05;
# – значимість відмінностей порівняно з групою КГ, p < 0,05

Note:
* – significance of differences between preterm and term pregnancy groups with similar pathology, p<0.05;
# – significance of differences compared to the control group, p<0.05

Ми отримали дані про те, що зі збільшенням терміну гестації у клінічних групах спостерігається посилення рівня експресії інтерстиційних колагенів I і III типів в амніотичній мезодермі, що відображає нормальний процес її старіння, на це також вказується і в зарубіжних дослідженнях [12].

До того ж, у групах ПЕД, АД і ХАД, порівняно з групою КГ, спостерігалося достовірне зниження вмісту інтерстиційних колагенів. Вочевидь це пов'язано з тим, що з ускладненням вагітності інтенсифікація набутих амніотичним епітелієм властивостей мезенхімальних клітин із колагенолітичною активністю призводить до посилення деградації колагену амніотичної мезодерми та підвищує ризик ПРПО.

Підвищення інтенсивності ІГХ реакції в мезенхімальних клітинах ворсин у клінічних групах пов'язано, можливо, зі стимулюючою дією хронічної гіпоксії, із стимуляцією активності фібробластів і з посиленням синтезу колагенових волокон у стромі ворсин і розвитком склеротичних змін.

Після аналізу показників оптичної щільності імунофлуоресценції інтерстиційних колагенів I і III у стромі ворсин і колагену IV типу в базальній мембрані судин ворсин і синцитіотрофобласту досліджуваних груп, які наведені у таблиці 16, можна від-

We obtained data indicating that as the gestational age increases in clinical groups, there is a strengthening of the expression of interstitial collagens I and III in the amniotic mesoderm, reflecting the normal aging process, which is also supported by foreign studies [12].

Furthermore, in the PED, AD, and HAD groups compared to the CG group, there was a significant decrease in the content of interstitial collagens. This is likely related to the fact that with the complication of pregnancy, the intensification of mesenchymal cell properties with collagenolytic activity leads to enhanced collagen degradation in the amniotic mesoderm and increases the risk of placental insufficiency.

The increased intensity of IHC reactions in the mesenchymal cells of the villi in the clinical groups is likely associated with the stimulating effect of chronic hypoxia on fibroblast activity and increased collagen fiber synthesis in the villous stroma, leading to sclerotic changes.

After analyzing the optical density values of immunofluorescence for interstitial collagen types I and III in the villous stroma and collagen IV in the basal membrane of the villous vessels and syncytiotrophoblast (as presented in Table 16), it can be noted that in the groups with term pregnancy, compared to the corresponding

значити, що в групах із доношеною вагітністю, порівняно з аналогічними групами у разі недоношеної вагітності та групи КГ, достовірно збільшується вміст обох видів інтерстиційних колагенів і колагену IV типу з превалюванням незрілого колагену III типу; причому в групах із ХА показники перевищують аналогічні в групі з ПЕ та ЗДА. У базальній мембрані судин і базальній мембрані синцитіотрофобласту виявилася поява колагену III типу. Таке збільшення вмісту інтерстиційних колагенів зумовлене, перш за все, хронічною гіпоксією, а ХА – є додатковою стимуляцією колагеногенезу в умовах активації фібробластів під впливом токсинів і антигенних факторів інфекційних агентів, що спричиняє розвиток склеротичних змін у плаценті [13, 14].

groups with preterm pregnancy and the CG group, there is a significant increase in the content of both types of interstitial collagens and collagen IV, with a predominance of immature collagen type III; furthermore, in the groups with HA, the indicators exceeded those in the groups with PE and ZDA. In the basal membrane of the vessels and basal membrane of the syncytiotrophoblast, collagen type III appeared. This increase in interstitial collagen content is primarily due to chronic hypoxia, and HA serves as an additional stimulus for collagenogenesis in conditions of fibroblast activation under the influence of toxins and antigenic factors from infectious agents, leading to sclerotic changes in the placenta [13, 14].

Таблиця 16. Морфометричні показники імуногістохімічних реакцій у ворсинах хоріона у клінічних і контрольній групах (M ± m)
Table 16. Morphometric Indicators of Immunohistochemical Reactions in the Chorionic Villi in Clinical and Control Groups (M±m)

Група / Group	Рівень експресії колагену I типу, ум. од. св. Collagen I expression, rel. units of fluorescence	Рівень експресії колагену III типу, ум. од. св. Collagen III expression, rel. units of fluorescence	Рівень експресії колагену IV типу, ум. од. св. Collagen IV expression, rel. units of fluorescence
ПЕН / PEN, (n=8)	0,102±0,002#	0,207±0,003#	0,094±0,003#
ПЕД / PED, (n=8)	0,211±0,007*#	0,344±0,004*#	0,206±0,007*#
АН / AN, (n=8)	0,088±0,009#	0,198±0,011#	0,074±0,007#
АД / AD, (n=8)	0,234±0,011*#	0,260±0,012*#	0,185±0,008*#
ХАН / HAN, (n=10)	0,111±0,003#	0,331±0,013#	0,107±0,003
ХАД / HAD, (n=16)	0,337±0,005*#	0,433±0,005*#	0,224±0,004*#
КГ / CG, (n=8)	0,121±0,004	0,226±0,003	0,111±0,007

Примітка:
* значимість відмінностей між групами з недоношеною і доношеною вагітністю у разі аналогічної патології, p < 0,05;
# – значимість відмінностей порівняно з КГ, p < 0,05.

Note:
* significance of differences between preterm and term pregnancy groups with similar pathology, p < 0.05;
# – significance of differences compared to the CG group, p < 0.05.

ВИСНОВКИ

На підставі імуногістохімічного дослідження визначено, що у фетальних оболонках і плаценті у разі наявності у матері ПЕ, ЗДА та ХА розвивається порушення колагеноутворення, вираженість якого залежить від патології матері. У різних структурних компонентах посліду вміст колагену може збільшуватися або зменшуватися.

Процес склерозування в послідах під час ПЕ, ЗДА та ХА має однотипний характер, але відрізняються рівнем його прояву. Найбільше зменшення рівня експресії інтерстиційних колагенів у фетальних оболонках внаслідок дії на колаген протеолітичних ферментів лейкоцитів запального інфільтрату, відбувається в послідах вагітних із доношеною вагітністю, ускладненою хоріоамніонітом, що значно підвищує ризик передчасного розриву плодових оболонок. У ворсинах хоріона вагітних з ХА достовірно підвищується рівень експресії інтерстиційних колагенів I і III типів і колагену IV типу в базальній мембрані судин і синцитіального епітелію, що вказує на додатковий негативний вплив медіаторів запалення на процес склерозування строми ворсин.

CONCLUSIONS

Based on the immunohistochemical study, it was determined that in fetal membranes and the placenta, in the presence of PE, ZDA, and HA in the mother, collagen formation disturbances develop, the severity of which depends on the maternal pathology. The collagen content in different structural components of the placenta may either increase or decrease.

The process of sclerosis in placentas during PE, ZDA, and HA follows a similar pattern but differs in the level of manifestation. The greatest decrease in the expression of interstitial collagens in the fetal membranes, due to the action of proteolytic enzymes from the leukocytes of the inflammatory infiltrate, occurs in the placentas of pregnant women with term pregnancies complicated by chorioamnionitis, which significantly increases the risk of premature rupture of the fetal membranes. In the chorionic villi of women with HA, there is a significant increase in the expression of interstitial collagens types I and III, as well as collagen IV in the basal membrane of vessels and syncytial epithelium, indicating an additional negative effect of inflammation mediators on the process of sclerosis in the villous stroma.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hong J.S., Romero R., Kusanovic J.P., Kim J.S., Lee J., Jin M. Trophoblast islands of the chorionic connective tissue (TICCT): a novel placental histologic feature. *Placenta*. 2013. Т. 34, № 4. P. 360–368. DOI: https://doi.org/10.1016/j.placenta.2013.01.012
2. Roland C.S., Hu J., Ren C.E., Chen H., Li J., Varvoutis M.S. Morphological changes of placental syncytium and their implications for the pathogenesis of preeclampsia. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016. Т. 73, № 2. P. 365–376. DOI: https://doi.org/10.1007/s00018-015-2069-x
3. Венцківська І.Б., Аксьонова А.В., Лагода Н.М. Морфологічні особливості плаценти при прееклампсії за даними гістохімії. *Health of Woman.* 2016. № 6(112). С. 73–76. DOI: https://doi.org/10.15574/HW.2016.112.73
4. Бондаренко Ю., Задорожна Т. Морфологічні особливості маркерів стресу в плаценті. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2020. Т. 12, № 3(45). С. 60–64. DOI: https://doi.org/10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.9
5. Патент на корисну модель № 46489 Україна G01N33/00. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Губіна-Вакулик Г. І., Сорокіна І. В., Марковський В. Д., Кихтенко О. В., Купріянова Л. С., Сидоренко Р. В.; заявник і патентовласник «ХНМУ». № u200906730; заяв. 26.06.2009; опубл. 25.12.2009. Бюлетень. № 4.
6. Zhang P. Decidual Vasculopathy in Preeclampsia and Spiral Artery Remodeling Revisited: Shallow Invasion versus Failure of Involution. *AJP Reports*. 2018. Т. 8, № 4. P. e241–e246. DOI: https://doi.org/10.1055/s-0038-1675348
7. Green E.S., Arck P.C. Pathogenesis of preterm birth: Bidirectional inflammation in mother and fetus. *Seminars in Immunopathology.* 2020. Т. 42, № 4. P. 413–429. DOI: https://doi.org/10.1007/s00281-020-00807-y
8. Megli C.J., Coyne C.B. Infections at the maternal-fetal interface: An overview of pathogenesis and defence. *Nature Reviews Microbiology.* 2022. Т. 20, № 2. P. 67–82. DOI: https://doi.org/10.1038/s41579-021-00610-y
9. Heydarifard Z., Zadheidar S., Yavarian J., et al. Potential role of viral infections in miscarriage and insights into the underlying molecular mechanisms. *Congenital Anomalies (Kyoto)*. 2022. Т. 62, № 2. P. 54–67. DOI: https://doi.org/10.1111/cga.12458
10. Білий Є.Є. Особливості морфологічних змін плацент вагітних з респіраторною патологією. *Вісник морської медицини.* 2020. № 4(89). С. 88–97. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.4430776
11. Rad H.S., Röhl J., Stylianou N., et al. The Effects of COVID-19 on the Placenta During Pregnancy. *Frontiers in Immunology.* 2021. Т. 12. 743022 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.743022
12. Menon R. Human fetal membranes at term: Dead tissue or signalers of parturition? *Placenta*. 2016. Т. 44. P. 1–5. DOI: https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.05.013
13. Kulus M., Sibiak R., Stefańska K., et al. Mesenchymal stem/stromal cells derived from human and animal perinatal tissues: Origins, characteristics, signaling pathways, and clinical trials. *Cells*. 2021. Т. 10, № 12. 3278 p. DOI: https://doi.org/10.3390/cells10123278
14. Neto da Silva A.C., Costa A.L., Teixeira A., et al. Collagen and microvascularization in placentas from young and older mares. *Frontiers in Veterinary Science.* 2022. Т. 8. 772658 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fvets.2021.772658

REFERENCES

1. Hong JS, Romero R, Kusanovic JP, Kim JS, Lee J, Jin M. Trophoblast islands of the chorionic connective tissue (TICCT): a novel placental histologic feature. *Placenta*. 2013;34(4):360–8. DOI: https://doi.org/10.1016/j.placenta.2013.01.012
2. Roland CS, Hu J, Ren CE, Chen H, Li J, Varvoutis MS. Morphological changes of placental syncytium and their implications for the pathogenesis of preeclampsia. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(2):365–76. DOI: https://doi.org/10.1007/s00018-015-2069-x
3. Ventskivska IB, Aksyonova AV, Lagoda NM. Morphological features of the placenta in preeclampsia according to histochemical data.*Health of Woman.* 2016;6(112):73–6. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.15574/HW.2016.112.73
4. Bondarenko Y, Zadorozhna T. Morphological features of stress markers in the placenta. *Neonatology, surgery and perinatal medicine*. 2020;12(3(45)):60–4. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.9
5. Gubina-Vakulyk GI, Sorokina IV, Markovsky VD, Kykhtenko OV, Kupriyanova LS, Sydorenko RV. Utility model patent No. 46489 Ukraine G01N33/00. Method for quantitative determination of antigen content in biological tissues /; applicant and patent owner «KhNMU». № u200906730; appl. 26.06.2009; publ. 25.12.2009. Bulletin. № 4. (In Ukrainian).
6. Zhang P. Decidual Vasculopathy in Preeclampsia and Spiral Artery Remodeling Revisited: Shallow Invasion versus Failure of Involution. *AJP Reports*. 2018;8(4):e241–6. DOI: https://doi.org/10.1055/s-0038-1675348
7. Green ES, Arck PC. Pathogenesis of preterm birth: Bidirectional inflammation in mother and fetus. *Seminars in Immunopathology.* 2020;42(4):413–29. DOI: https://doi.org/10.1007/s00281-020-00807-y
8. Megli CJ, Coyne CB. Infections at the maternal-fetal interface: An overview of pathogenesis and defence. *Nature Reviews Microbiology*. 2022;20(2):67–82. DOI: https://doi.org/10.1038/s41579-021-00610-y
9. Heydarifard Z, Zadheidar S, Yavarian J, et al. Potential role of viral infections in miscarriage and insights into the underlying molecular mechanisms. *Congenital Anomalies (Kyoto)*. 2022;62(2):54–67. DOI: https://doi.org/10.1111/cga.12458
10. Bely EE. Peculiarities of morphological changes in placentas of pregnant women with respiratory pathology. *Bulletin of Marine Medicine.* 2020;4(89):88–97. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.4430776
11. Rad HS, Röhl J, Stylianou N, et al. The Effects of COVID-19 on the Placenta During Pregnancy. *Frontiers in Immunology.* 2021;12:743022. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.743022
12. Menon R. Human fetal membranes at term: Dead tissue or signalers of parturition? *Placenta*. 2016;44:1–5. DOI: https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.05.013
13. Kulus M, Sibiak R, Stefańska K, et al. Mesenchymal stem/stromal cells derived from human and animal perinatal tissues: Origins, characteristics, signaling pathways, and clinical trials. *Cells*. 2021;10(12):3278. DOI: https://doi.org/10.3390/cells10123278
14. Neto da Silva AC, Costa AL, Teixeira A, et al. Collagen and microvascularization in placentas from young and older mares. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;8:772658. DOI: https://doi.org/10.3389/fvets.2021.772658

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження включають розширення розуміння патогенетичних механізмів порушення колагенового матриксу у плаценті та фетальних оболонках в умовах материнських патологій, таких як прееклампсія, анемія і хоріоамніоніт. Це може сприяти ідентифікації нових біомаркерів для раннього прогнозування ускладнень вагітності, зокрема ризику передчасного розриву плодових оболонок та внутрішньоутробної гіпоксії. Крім того, детальне вивчення експресії різних типів колагену може стати основою для створення терапевтичних підходів, спрямованих на корекцію структурно-функціональних порушень плацентарного бар'єру, що, у свою чергу, може знизити перинатальну захворюваність і смертність.

Prospects for further research

Further research prospects include expanding the understanding of the pathogenetic mechanisms of collagen matrix disruption in the placenta and fetal membranes in the context of maternal pathologies such as preeclampsia, anemia, and chorioamnionitis. This may help to identify new biomarkers for early prediction of pregnancy complications, including the risk of premature rupture of membranes and intrauterine hypoxia. In addition, a detailed study of the expression of different types of collagen can be the basis for the development of therapeutic approaches aimed at correcting structural and functional disorders of the placental barrier, which in turn can reduce perinatal morbidity and mortality.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками

Conflict of interest

The authors of the manuscript knowingly declare that there is no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device

біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

manufacturers, or other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject matter of the materials provided or who sponsored the research.

Інформація про фінансування **Funding information**

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України «Виявлення впливу патології матері на розвиток організму плода та дітей раннього віку», номер державної реєстрації: 0124U001606, прикладна, термін виконання: 2024–2027 рр., керівник – завідувач кафедри нормальної анатомії та фізіології людини медичного факультету, доктор медичних наук, професор С.О. Шерстюк.

The article is a fragment of the planned research work of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine «Detection of the influence of maternal pathology on the development of the fetus and young children», state registration no: 0124U001606, applied, term of execution: 2024–2027, supervisor – Head of the Department of Normal Human Anatomy and Physiology of the School of Medicine, Doctor of Medical Sciences, Professor S.O. Sherstyuk.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Зац Ольга Сергіївна – аспірант кафедри нормальної анатомії та фізіології людини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: olgse@ukr.net
моб.: +38 (099) 285-61-06
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Шерстюк Сергій Олексійович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри нормальної анатомії та фізіології людини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: sergeysherstyuk@karazin.ua
моб.: +38 (050) 133-08-52
Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

Панов Станіслав Ігорович – доктор філософії з медицини, доцент кафедри нормальної анатомії та фізіології людини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: StanislavPanov@karazin.ua
моб.: +38 (099) 460-39-94
Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Zats Olha Sergiyivna – Postgraduate student of Department of Normal Human Anatomy and Physiology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: olgse@ukr.net
tel.: +38 (099) 285-61-06
Author's contribution: *selection of literature sources on the topic, participation in experimental research, writing the text of the article, and formulation of conclusions.*

Sherstyuk Serhii Olexiyovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Human Anatomy and Physiology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: sergeysherstyuk@karazin.ua
tel.: +38 (050) 133-08-52
Author's contribution: *formulation of the work objective, conducting experimental studies, analyzing the data obtained and their statistical processing.*

Panov Stanislav Ihorovych – Doctor of Philosophy in Medicine, Associate Professor of the Department of Normal Human Anatomy and Physiology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: StanislavPanov@karazin.ua
моб.: +38 (099) 460-39-94
Author's contribution: *formulation of the work objective, conducting experimental studies, analyzing the data obtained and their statistical processing.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 10.10.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 175–182
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):175–182 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-06
УДК: 616.33/.34-089.168-018:612.017:[615.472.3:615.837

Особливості імунних реакцій в тканинах шлунково-кишкового тракту та їх вплив на перебіг репаративних процесів залежно від застосованих видів фізичної дисекції

Цівенко О.І.[1], https://orcid.org/0000-0003-0839-9768, e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua
Козаченко А.В.[2], https://orcid.org/0000-0003-1945-7505, e-mail: kozach1971@gmail.com
Шморгун В.В.[1], https//orcid.org/0009-0006-9879-3302, e-mail: toxikoz3@ukr.net

[1]*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна*
[2]*Товариство з обмеженою відповідальністю SPA Курорт Брусно, Брусно, Словацька Республіка*

Features of immune responses in gastrointestinal tract tissues and their impact on the course of reparative processes depending on the types of physical dissection applied

Tsivenko O.I.[1], https://orcid.org/0000-0003-0839-9768, e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua
Kozachenko A.V.[2], https://orcid.org/0000-0003-1945-7505, e-mail: kozach1971@gmail.com
Shmorhun V.V.[1], https//orcid.org/0009-0006-9879-3302, e-mail: toxikoz3@ukr.net

[1]*V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*
[2]*Kúpele Brusno SPA Limited Liability Company, Brusno, Slovak Republic*

Ключові слова:

ультразвуковий скальпель, монополярний електроскальпель, шлунково-кишковий тракт, цитокіни, ендотелін-1.

Для кореспонденції:

Цівенко Олексій Іванович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра хірургічних хвороб;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua

© Цівенко О.І., Козаченко А.В., Шморгун В.В., 2024.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Розглянуто проблему репаративних процесів у шлунково-кишковому тракті, які значною мірою залежать від особливостей імунних реакцій у тканинах. Питання вибору методів фізичної дисекції є важливим для зменшення травматизації та запобігання ускладненням після оперативних втручань.
Мета роботи – дослідити особливості місцевих імунних реакцій та динаміку репаративних процесів у зонах гастро-, ентеро- та колотомії після застосування монополярного електроскальпеля (МЕС) та ультразвукового скальпеля (УЗС).
Матеріали та методи. Дослідження проводили на кролях із використанням експериментальної моделі лапаротомії. Розсічення тканин виконували за допомогою МЕС та УЗС. Здійснювали імуногістохімічне дослідження з використанням маркерів імунних клітин та аналізували вміст цитокінів у різні терміни післяопераційного періоду.
Результати та їх обговорення. Використання УЗС супроводжувалося менш вираженими морфологічними та імунними порушеннями. Зміна стадій запалення при УЗС відбувалася швидше та супроводжувалася зростанням активності протизапальної цитокінової системи. У групі МЕС спостерігався пролонгований некроз, виразне запалення та гальмування репаративних процесів. УЗС забезпечив сприятливі умови для загоєння ран завдяки помірній ішемії та меншій травматизації тканин.
Висновки. Застосування УЗС дозволяє зменшити травматичність тканин, прискорює зміну стадій запалення та сприяє покращенню умов репаративного процесу. МЕС, навпаки, супроводжується високою травматичністю, що потребує додаткової уваги при формуванні анастомозів органів шлунково-кишкового тракту.

Для цитування:

Цівенко О.І., Козаченко А.В., Шморгун В.В. Особливості імунних реакцій в тканинах шлунково-кишкового тракту та їх вплив на перебіг репаративних процесів залежно від застосованих видів фізичної дисекції. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 1175–182. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-06

Key words:

ultrasonic scalpel, monopolar electroscalpel, gastrointestinal tract, cytokines, endothelin-1.

For correspondence:

Tsivenko Oleksij Ivanovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Surgical Diseases;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua

© Tsivenko OI, Kozachenko A.V., Shmorhun V.V., 2024

ABSTRACT

Background. The issue of reparative processes in the gastrointestinal tract, which largely depend on the characteristics of immune responses in tissues, is addressed. The choice of physical dissection methods is crucial for minimizing tissue trauma and preventing complications after surgical interventions.
Purpose – to investigate the characteristics of local immune responses and the dynamics of reparative processes in the areas of gastro-, entero-, and colotomies after using monopolar electroscalpel (MES) and ultrasonic scalpel (USS).
Materials and Methods. The study was conducted on raddits using an experimental laparotomy model. Tissue dissection was performed using MES and USS. Immunohistochemical studies with immune cell markers were carried out, and cytokine levels were analyzed at various postoperative periods.
Results. The use of USS was associated with less pronounced morphological and immune disturbances. The transition of inflammatory stages with USS occurred more rapidly and was accompanied by increased activity of the anti-inflammatory cytokine system. In the MES group, prolonged necrosis, pronounced inflammation, and delayed reparative processes were observed. USS created favorable conditions for wound healing due to moderate ischemia and reduced tissue trauma.
Conclusions. The application of USS reduces tissue trauma, accelerates the transition of inflammatory stages, and improves the conditions for reparative processes. In contrast, MES is associated with higher tissue trauma, necessitating additional attention when forming gastrointestinal anastomoses.

For citation:

Tsivenko OI, Kozachenko AV, Shmorhun VV. Features of immune responses in gastrointestinal tract tissues and their impact on the course of reparative processes depending on the types of physical dissection applied. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):175–182. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-06

ВСТУП

Заключною фазою загоєння будь-якої пошкодженої тканини, незалежно від етіологічного чинника, є репаративний процес. Репаративна регенерація – це відновлення пошкодженої або втраченої тканини, але ступінь і якість регенеративного процесу у різних тканин свої. Вони напряму залежать від цілої низки чинників, головними з яких є етіологічний фактор, особливості гістологічної будови ушкоджених тканин, ступінь диференціювання тканин, коректність місцевих процесів відновлення, стан організму хворого, супутня патологія та інші.

Рани залишаються однією з найактуальніших наукових та практичних проблем сучасної медицини [1–3]. Питання розвитку післяопераційних ускладнень, тривале незагоєння ран, формування рубців і поганий естетичний ефект викликають особливий інтерес лікарів різних спеціальностей [4–8, 11]. Репаративні процеси в рані характеризуються фазною зміною будови її структурних елементів, які формують стінку органа або тканини, що розсікаються чи травмуються. Безперечним є той факт, що чим менше травмуючий чинник, тим більш сприятливі умови для перебігу репаративних процесів. Проблема атравматичного, безкровного розсічення тканин є ключовим завданням хірургії. Набутий за багато років світовий досвід переконливо доводить, що універсального методу фізичної дисекції та коагуляції немає. Незалежно від методу або типу енергетичної установки в основі розсічення лежить пошкодження тонкої зони біологічної тканини під впливом високих температур або механічної енергії [4, 6, 7].

Повторна травма, а також ішемія та доєднання інфекції призводить до переходу процесів у хронічний стан [1, 3, 7]. Крім того, гостра й хронічна

INTRODUCTION

The final phase of healing for any damaged tissue, regardless of the etiological factor, is the reparative process. Reparative regeneration refers to the restoration of damaged or lost tissue, but the degree and quality of the regenerative process vary across different tissues. They directly depend on a number of factors, the main ones being the etiological factor, the histological structure of the damaged tissues, the degree of tissue differentiation, the accuracy of local restoration processes, the patient's overall health, comorbid conditions, and others.

Wounds remain one of the most pressing scientific and practical problems in modern medicine [1–3]. Issues such as postoperative complications, prolonged wound healing, scar formation, and poor aesthetic outcomes are of particular interest to specialists in various medical fields [4–8, 11]. Reparative processes in wounds characterized by a phased alteration in the structure of their elements, which form the walls of the organ or tissues subjected to incision or trauma. It is undeniable that the less traumatic the factor, the more favorable the conditions for reparative processes. The challenge of achieving atraumatic and bloodless tissue dissection remains a key task in surgery. Many years of accumulated global experience convincingly demonstrate that there is no universal method of physical dissection and coagulation. Regardless of the method or type of energy device, tissue dissection fundamentally involves damage to a thin layer of biological tissue under the influence of high temperatures or mechanical energy [4, 6, 7].

However, repeated trauma, ischemia, and infection can lead to chronic processes [1, 3, 7]. Furthermore, acute and chronic wound infections, which result in prolonged treatment and high mortality rates, have become a significant burden on healthcare systems

ранова інфекція, що призводить до довготривалого лікування та високої летальності, стала серйозним викликом для охорони здоров'я в усьому світі. І хоча основний механізм інфекцій був широко досліджений вченими і більш-менш стандартне лікування ран регулярно використовується в загальній практиці, стратегія діагностики та лікування ранових інфекцій залишається великою проблемою через появу колонізації біоплівки, сповільненого загоєння ран та розвитку резистентності мікроорганізмів до ліків [1, 7–9]. Привертає увагу й те, що на перебіг ранового процесу й рівень інфікованості ран та їх лікування широкий вплив має імунна система або застосування імуномодуляторів. Однак одностайної думки щодо впливу місцевих імунних реакцій на репаративний процес на даний час не існує [7, 8, 10, 11].

Проведені раніше дослідження свідчать про недостатню вивченість процесів, що відбуваються в зоні впливу різних видів енергії, тяжкості пошкоджень та динаміці репаративних процесів. Це зумовлено відсутністю всебічного аналізу особливостей місцевих процесів після впливу різних видів енергії на тканини органів шлунково-кишкового тракту з урахуванням безпосереднього основного ефекту, морфологічних змін у зоні втручання, а також закономірностей перебігу репаративних процесів.

Мета роботи – вивчення характеру місцевих імунних реакцій та особливостей репаративних процесів у зоні гастро-, ентеро- та колотомних ран після застосування електрохірургічної та ультразвукової дисекції тканин щодо попередження післяопераційних ускладнень анастомозів шлунково-кишкового тракту.

worldwide. Although the primary mechanisms of infection have been extensively studied and relatively standardized wound treatments are regularly used in clinical practice, the diagnosis and treatment of wound infections remain a significant challenge due to biofilm colonization, delayed wound healing, and the development of microbial drug resistance [1, 7–9].

It is noteworthy that the immune system, or the use of immunomodulators, significantly influences the course of the wound-healing process, the level of wound infection, and treatment outcomes. However, there is currently no consensus on the effect of local immune responses on reparative processes [7, 8, 10, 11].

Previous studies indicate insufficient research on the processes occurring in the zones exposed to various energy types, the severity of tissue damage, and the dynamics of reparative processes. This is largely due to the lack of comprehensive analysis of local processes after exposure to different energy types on the tissues of the gastrointestinal tract organs, considering the primary effect, morphological changes in the intervention area, and the patterns of reparative processes.

Objective – study focuses on the nature of local immune responses and the characteristics of reparative processes in the zones of gastro-, entero-, and colotomy wounds following electrosurgical and ultrasonic tissue dissection, with an emphasis on preventing postoperative complications of gastrointestinal anastomoses.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальна частина роботи виконана у віварії Інституту проблем кріобіології та кріомедицини Національної академії наук України на кролях породи Шиншилла, масою 3,0–3,5 кг, для цього були створені усі необхідні умови. Усім тваринам на початку експерименту готували операційне поле на передній частині черевної стінки розміром близько 1×5 см та виконували їх маркування. Після цього тваринам проводили премедикацію димедролом з розрахунку 1,5 мг на кг/маси тіла та аміназину 0,02 мг/кг, які уводили внутрішньом'язово. Наркоз проводили шляхом внутрішньом'язового введення кетаміну з розрахунку 15 мг/кг маси тіла кроля. Після введення кетаміну, в середньому через 10 хвилин, тварини засинали і не реагували на зовнішні подразники. Сон продовжувався протягом 40–60 хв. Під наркозом тварин фіксували за кінцівки на робочому столі для підготовки операційного поля та нанесення розмітки майбутньої рани. В подальшому проводили лапаротомію з проведенням гастро-, ентеро- або колотомії. Рани різних відділів шлунково-кишкового тракту ушивали одно- або дворядними швами за допомогою атравматичного монофіламентного біодеградуючого шовного матеріалу. При цьому були вивчені деструктивні та репаративні процеси, що відбуваються в стінках шлунка, тонкої та товстої кишки після розтину їх монополярним електричним (МЕС) та ультразвуковим скальпелями (УЗС). Тварини були поділені на дві групи по 30 у кожній. В умовах кетамінового наркозу в І групі за допомогою

MATERIALS AND METHODS

The experimental part of the study conducted at the vivarium of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, using Chinchilla breed raddits weighing 3–3.5 kg, under conditions designed to meet all necessary requirements. At the beginning of the experiment, an operative field approximately 1×5 cm was prepared on the anterior abdominal wall of each animal, and the areas were marked. Premedication included intramuscular administration of diphenhydramine at a dose of 1.5 mg/kg body weight and aminazine at 0.02 mg/kg. Anesthesia induced with intramuscular ketamine at 15 mg/kg body weight, which led to sleep within 10 minutes on average, rendering the animals unresponsive to external stimuli. The sleep duration ranged from 40 to 60 minutes.

Under anesthesia, the animals secured by their limbs on an operating table for further preparation of the operative field and marking of the intended wound area. Subsequently, laparotomies performed, followed by gastro-, entero-, or colotomies. The wounds in various sections of the gastrointestinal tract were sutured using one- or two-layer stitches with atraumatic monofilament biodegradable suture material. Destructive and reparative processes occurring in the stomach, small intestine, and colon walls after incisions made with a monopolar electroscalpel (MES) and an ultrasonic scalpel (USS) studied.

The animals divided into two groups, each comprising 30 subjects. In the MES group, stomach, small intestine, and colon walls incised using a monopolar electroscalpel,

МЕС, а у ІІ групі за допомогою УЗС розсікалися стінки шлунка, тонкої та товстої кишки. У всіх тварин рани вшиті однорядним безперервним швом. Терміни спостереження за тваринами склали: через годину після операції на 3-тю; 7-му; 14-ту та 30-ту добу післяопераційного періоду.

Експерименти проведені відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених І Національним конгресом з біоетики (20.09.2004, Київ, Україна) та узгоджені з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» [3].

Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах товщиною 5–6 мкм непрямим методом Кунса за методикою Brosman (1979).

Фенотипування імунних клітин проводили за допомогою моноклональних антитіл (МАТ) фірми Serotec. МАТ до ендотеліну-1 (ED-1) (Novocastra Laboratories Ltd), Великобританія. Визначення клітин-продуцентів інтерлейкінів проводили за допомогою МАТ анти-ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП-α, ІЛ-10. У якості люмінесцентної мітки використовували F(ab)-2 – фрагменти антитіл кролів проти імуноглобулінів мічених ФІТЦ (флуоресцеїну ізотіоціонат). Препарати вивчали у люмінесцентному мікроскопі МЛ-2 з використанням світлофільтрів: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Відносну кількість основних клонів імунних клітин визначали за допомогою сітки Г.Г. Автанділова (1999 р.).

while in the USS group, the same tissues were incised with an ultrasonic scalpel. In all cases, wounds closed using a single continuous suture. Observations were made at intervals of 1 hour post-operation and on the 3rd, 7th, 14th, and 30th days of the postoperative period.

The experiments were conducted in compliance with the General Principles for Experiments on Animals approved by the First National Congress on Bioethics (September 20, 2004, Kyiv, Ukraine) and aligned with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [3].

Immunohistochemical studies performed on paraffin sections 5–6 μm thick using the indirect Coons method according to the Brosman technique (1979). Immunophenotyping of immune cells was conducted using monoclonal antibodies (mAbs) produced by Serotec. These included mAbs to endothelin-1 (ED-1) (Novocastra Laboratories Ltd, UK) and those specific for interleukin-producing cells: anti-IL-1β, IL-6, TNF-α, and IL-10. FITC-labeled F(ab)-2 fragments of raddit antibodies against mouse immunoglobulins were used as fluorescent markers. Preparations examined using an ML-2 fluorescence microscope equipped with light filters: FS-1-2, SZS-24, BS-8-2, and UFS-6-3. The relative quantities of major immune cell clones were determined using G.G. Avtandilov's grid method (1999).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виділені в кінці минулого та на початку нинішнього сторіччя ендотеліни належать до сімейства вазопресорних пептидів ендотеліального походження, їх фізіологічна роль повністю не вивчена, що потребує активних наукових пошуків. Ендотеліальні клітини вистилають усі кровоносні судини, є одними з найпоширеніших типів клітин організму. У стінках артерій шлунково-кишкового тракту ендотеліальні клітини розташовуються безпосередньо на поверхні гладком'язових клітин судинної стінки. Саме вони синтезують та виділяють у кровоток вазоконстрикторні речовини – ендотеліни, інтерлейкіни, фактор, що активує тромбоцити, тромбоксани та лейкотрієни. Розрізняють ендотеліни 1, 2 і 3, з яких найбільш потужним вазоконстриктором є ED-1. Залежно від концентрації в тканинах даного судинозвужувального фактора може розвиватися ішемія того чи іншого ступеня, крім того, присутність про- та протизапальних цитокінів зумовлює виразність запалення, а, як відомо, такі несприятливі умови можуть призводити до суттєвих порушень репаративних процесів, що клінічно буде проявлятися у ранньому післяопераційному періоді неспроможністю швів анастомозу з подальшим розвитком низки ускладнень, у тому числі перитоніту та абдомінального сепсису. А в подальшому – стриктуру та стеноз кишкового анастомозу з порушенням пасажу кишкового вмісту.

Враховуючи вищезазначене, нами вивчено динаміку інтенсивності світіння ED-1 у судинному руслі, вміст клітин-продуцентів прозапальних та протизапальних цитокінів у зоні гастро-, ентеро- та колотомних ран після дисекції МЕС та УЗС у різні терміни післяопераційного періоду.

RESULTS AND DISCUSSION

Endothelins, identified in the late 20th and early 21st centuries, belong to the family of vasopressor peptides of endothelial origin. Their physiological role has not been fully studied, which requires active scientific research. Endothelial cells, which line all blood vessels, are among the most widespread cell types in the body. In the arterial walls of the gastrointestinal tract, these cells are located directly on the surface of vascular smooth muscle cells. They synthesize and release vasoconstrictive substances – endothelins (ED), interleukins, platelet-activating factors, thromboxanes, and leukotrienes – into the bloodstream. Among endothelins 1, 2, and 3, ED-1 is the most potent vasoconstrictor. Depending on the concentration of this vasoconstrictor in tissues, ischemia of varying degrees may develop. Additionally, the presence of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines influences the severity of inflammation, and such adverse conditions can significantly disrupt reparative processes. Clinically, these disruptions may manifest in the early postoperative period as anastomotic dehiscence, leading to complications such as peritonitis and abdominal sepsis. Over time, they can result in stricture or stenosis of intestinal anastomoses, impairing the passage of intestinal contents.

Considering the above, this study examined the dynamics of ED-1 fluorescence intensity in the vascular bed and the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine-producing cells in the areas of gastro-, entero-, and colotomy wounds following MES and USS dissections at various postoperative periods.

The research revealed that by day 3 of the postoperative period, demarcation inflammation after MES

Проведене дослідження виявило, що після застосування МЕС на 3-тю добу післяопераційного періоду демаркаційне запалення мало виразний характер, запальна інфільтрація характеризувалася суттєвим поширенням і була представлена переважно нейтрофільними гранулоцитами (НГ) з невеликою домішкою макрофагів. Нами було встановлено, що деструктивні зміни у тканинах значно більші при застосуванні електроскальпеля – зона некрозу після завершення електродисекції складала у шлунку – 284,832 ± 13,711 (від 208,109 до 357,129) мкм; в тонкому кишечнику – 380,87 ± 15,285 (від 293,416 до 427,168) мкм; в ободовій кишці – 379,106 ± 14,469 (від 281,878 до 451,399) мкм. Ультразвукова дисекція характеризувалась розвитком менш виразних пошкоджень, зона латерального некрозу у шлунку складала – 167,486 ± 13,853 (від 138,593 до 220,728) мкм; в тонкому кишечнику – 168,925 ± 11,573 (від 116,79 до 243,178) мкм, в ободовій кишці – 167,47 ± 3,536 (від 146,286 до 190,795) мкм, що достовірно менше, порівняно з аналогічними показниками після електродисекції (p<0,005). За зоною некрозу починалася зона некробіозу. Але протягом трьох діб після проведення розсічення тканин (коагуляції) електрохірургічним методом спостерігалась пролонгована деструкція тканин, що підтверджено розширенням зон некрозу та некробіозу майже вдвічі (в шлунку – 739,259 ± 39,929 мкм; в тонкому кишечнику – 1010,528 ± 29,104 мкм, в ободовій кишці – 1017,83 ± 27,928 мкм). Стабільність ранового процесу зафіксована після третьої доби раннього післяопераційного періоду, тобто мав місце феномен пролонгованого некрозу. При застосуванні УЗС даний ефект не встановлено, стабілізація ранового процесу відбувалася протягом кількох годин після проведення розсічення.

Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах завтовшки 5–6 мкм непрямим методом Кунса за методикою Brosman (1979). Імунні клітини диференціювали за допомогою моноклональних антитіл (МКА) кролів до різних типів клітин фірми Serotec. Використовували CD3, CD18, CD45RA, ED1, ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП, ІЛ-10, ІЛ-4. Було виявлено переважання CD18-НГ. Крім того, відзначалися поодинокі CD3+-Т-лімфоцити, CD22+-В-лімфоцити та CD14+-макрофаги. Серед імунних клітин були виявлені клітини-продуценти прозапальних (ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП-α) та протизапальних цитокінів (ІЛ-10), з помітною перевагою прозапальних.

Відносна кількість основних клонів клітин-продуцентів цитокінів у запальному інфільтраті у перерахунку на 100 клітин дорівнювала: ІЛ-1 – 30,2 ± 4,9%; ІЛ-6 – 29,1 ± 3,5%; ФНП-α – 27,5 ± 3,6%; ІЛ-10 – 6,0 ± 0,9%. Під час проведення дисекції тканин УЗС дані показники були такими: ІЛ-1 – 28,0 ± 3,8%; ІЛ-6 – 29,0 ± 3,6%; ФНП-α – 24,0 ± 3,0; ІЛ-10 – 9,0 ± 1,3 (p < 0,05) проти групи МЕС. Надалі спостерігалося вирівнювання співвідношення між про- та протизапальними інтерлейкінами – в І групі спостерігалося на 14-ту добу спостереження, у ІІ групі тварин цей процес відбувався на 7-му добу післяопераційного періоду. У наступні терміни спостереження відбувалося переважання у тканинах клітин-продуцентів протизапальних інтерлейкінів над прозапальними. До 30-ї доби експерименту кількість клітин-продуцентів у І групі дорівнювала: ІЛ-1 – 16,0 ± 2,0%; ІЛ-6 – 18,0 ± 2,3%;

had a pronounced character, with inflammatory infiltration characterized by substantial spread and composed mainly of neutrophilic granulocytes (NG) with a small proportion of macrophages. Tissue destruction was significantly greater following electroscalpel use, with necrotic zone measurements as follows – stomach: 284.832 ± 13.711 μm (range: 208.109–357.129 μm); small intestine: 380.87 ± 15.285 μm (range: 293.416–427.168 μm); colon: 379.106 ± 14.469 μm (range: 281.878–451.399 μm). Ultrasonic dissection resulted in less pronounced damage, with lateral necrotic zone measurements as follows – stomach: 167.486 ± 13.853 μm (range: 138.593–220.728 μm); small intestine: 168.925 ± 11.573 μm (range: 116.79–243.178 μm); colon: 167.47 ± 3.536 μm (range: 146.286–190.795 μm). These were significantly smaller compared to MES (p < 0.005). Beyond the necrotic zone was the necrobiosis zone. However, during the first three days after MES dissection, prolonged tissue destruction was observed, as evidenced by almost double the extension of necrotic and necrobiotic zones – stomach: 739.259 ± 39.929 μm; small intestine: 1010.528 ± ± 29.104 μm; colon: 1017.83 ± 27.928 μm. Stabilization of the wound process occurred after the third postoperative day, indicating prolonged necrosis. In contrast, no such effect observed with USS; wound stabilization occurred within a few hours post-dissection.

Immunohistochemical analysis of 5–6 μm-thick paraffin sections conducted using the indirect Coons method (Brosman, 1979). Immune cells were differentiated using monoclonal antibodies (mAbs) against various cell types from Serotec, targeting CD3, CD18, CD45RA, ED1, IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10, and IL-4. The predominant immune cells were CD18+ NGs, along with scattered CD3+ T-lymphocytes, CD22+ B lymphocytes, and CD14+ macrophages. Pro-inflammatory cytokine-producing cells (IL-1, IL-6, TNF-α) were dominant over anti-inflammatory ones (IL-10).

The relative abundance of cytokine-producing cells per 100 immune cells in the inflammatory infiltrate was – IL-1: 30.2 ± 4.9%; IL-6: 29.1 ± 3.5%; TNF-α: 27.5 ± 3.6%; IL-10: 6.0 ± 0.9%. With USS, these values were – IL-1: 28.0 ± 3.8%; IL-6: 29.0 ± 3.6%; TNF-α: 24.0 ± 3.0%; IL-10: 9.0 ± 1.3% (p < 0.05 compared to MES).

Pro- and anti-inflammatory cytokine ratios equilibrated by day 14 in the MES group but by day 7 in the USS group. By day 30, anti-inflammatory cytokine-producing cells predominated – MES group: IL-1: 16. 0 ± 2.0%; IL-6: 18.0 ± 2.3%; TNF-α: 16.0 ± 2.3%; IL-10: 22.0 ± 2.5%. USS group: IL-1: 7.0 ± 0.4%; IL-6: 9.0 ± 0.7%; TNF-α: 8.0 ± 0.6%; IL-10: 37.0 ± 4.3% (p < 0.05 compared to MES). From day 14 to day 30, the maturation of connective tissue vasculature allowed for the objective assessment of ED-1 receptor expression in endothelial cells. High ED-1 levels in tissues caused vasoconstriction and ischemia, delaying reparative processes. ED-1 fluorescence intensity in regeneration zones was significantly lower with USS than with MES – MES group: day 14: 22.0 ± 2.0 units; day 30: 38.0 ± 3.5 units. USS group: day 14: 17.3 ± 2.1 units; day 30: 20.50 ± 2.9 units (p < 0.05).

Since day 14 of the experiment, both the basement membranes and the endothelial lining became clearly identifiable in the vessels of the maturing connective tissue, thereby allowing an objective evaluation of the

ФНП – 16,0 ± 2,3%; ІЛ-10 – 22,0 ± 2,5%; у II групі: ІЛ-1 – 7,0 ± 0,4%; ІЛ-6 – 9,0 ± 0,7%; ФНП – 8,0 ± 0,6%; ІЛ-10 – 37,0 ± 4,3% ($p < 0,05$) порівняно з групою МЕС.

Оскільки з 14-ї доби експерименту в судинах дозріваючої з'єднувальної тканини стали чітко визначатися як базальні мембрани, так і ендотеліальна вистилка, з'явилася можливість для об'єктивної оцінки ступеня експресії рецепторів до ED-1 ендотеліоцитами зазначених судин. Наявність у тканинах потужного ендогенного вазоконстриктора істотно впливає на репаративні процеси. У судинах зон регенерації стінок шлунка, тонкого і товстого кишечника з 14-ї до 30-ї доби експерименту визначено наростання ступеня експресії рецепторів до ED-1. Слід зазначити, що проведене дослідження не виявило суттєвих відмінностей досліджуваних показників серед органів шлунково-кишкового тракту, на яких проводилася дисекція, тому в дослідженні подано дані, отримані із зони гастротомної рани. Після виконання дисекції МЕС інтенсивність світіння ED-1 в ендотелії судин зони регенерації після обробки препаратів МАТ до ED-1 на 14-ту добу дорівнювала 22,0 ± 2,0 у.о, на 30-ту 38,0 ± 3,5 у.о.; в ці самі терміни експерименту в групі, де застосовувався УЗС, дані, що вивчалися, становили: 17,3 ± 2,1 та 20,50 ± 2,9 у.о. відповідно ($p < 0,05$). Інтенсивність продукції ED-1 наростала від 14-ї доби експерименту до 30-ї і в I групі і розцінювалася як висока, що, безсумнівно, вело до вазоконстрикції та ішемії зони регенерації, сповільнюючи та порушуючи репаративні процеси. При цьому, порівняно з дисекцією, виконаною МЕС, при впливі УЗС ступінь інтенсивності продукції ED-1 розцінювався як помірний, що супроводжувалося менш виразними ішемічними розладами, і в комплексі з іншими факторами створювало більш сприятливі умови для перебігу репаративних процесів.

Таким чином, у динаміці загоєння при УЗС-дисекції, що спостерігалося протягом дослідження (з моменту дисекції до 30-ї доби експерименту), вдалося простежити послідовні стадії запального процесу. На 3-тю добу після оперативного втручання у гастротомній рані переважаючими клітинними формами були ПМЯЛ (CD18+) на фоні високої активності продукції прозапальних цитокінів.

На зміну цієї стадії досить рано наступала макрофагальна стадія (7-ма доба), коли значно зростала популяція CD14+-клітин, а також лімфоцитів (CD3+, CD22+), а потім розвивалася фібробластична (14-та, 30-та доба) стадія, в той же час при використанні МЕС у запальному інфільтраті тривалий час переважали ПМЯЛ (CD18+), зміна стадій запалення відбувалася зі значною затримкою. Особливістю місцевих імунних реакцій після застосування УЗС було наростання активності продукції протизапальних цитокінів та гальмування продукції прозапальних цитокінів щодо розвитку регенераторного процесу.

degree of ED-1 receptor expression by the endothelial cells of these vessels. The presence of a potent endogenous vasoconstrictor in the tissues significantly influences reparative processes. In the vessels of the regenerating zones of the stomach, small intestine, and large intestine, an increase in the degree of ED-1 receptor expression was observed from day 14 to day 30 of the experiment. It should be noted that the study did not reveal any significant differences in the examined parameters among the dissected organs of the gastrointestinal tract; therefore, the data presented were obtained from the region of the gastrotomy wound.

After the MES dissection, the intensity of ED-1 luminescence in the endothelium of the vessels in the regeneration zone following treatment with MAT preparations for ED-1 was 22.0 ± 2.0 arbitrary units on day 14 and 38.0 ± 3.5 arbitrary units on day 30. In the group where ultrasound (USS) was applied, the corresponding values were 17.3 ± 2.1 and 20.50 ± 2.9 arbitrary units, respectively ($p < 0.05$). The intensity of ED-1 production increased from day 14 to day 30 in Group I and was regarded as high, which undoubtedly led to vasoconstriction and ischemia in the regeneration zone, thereby slowing down and disrupting the reparative processes. In contrast, compared to the MES dissection, under the influence of ultrasound the intensity of ED-1 production was considered moderate, which was accompanied by less pronounced ischemic disturbances and, in combination with other factors, created more favorable conditions for reparative processes.

Thus, in the dynamics of wound healing in the ultrasound dissection group observed throughout the study (from the moment of dissection to day 30 of the experiment), the sequential stages of the inflammatory process could be tracked. On day 3 after the surgical intervention, polymorphonuclear leukocytes (PMNLs, CD18+) predominated in the gastrotomy wound against a background of high activity in the production of pro-inflammatory cytokines. This stage was relatively soon replaced by a macrophage stage (day 7), during which the population of CD14+ cells, as well as lymphocytes (CD3+, CD22+), increased significantly, followed by a fibroblastic stage (days 14 and 30). In contrast, when using MES, PMNLs (CD18+) dominated the inflammatory infiltrate for an extended period, and the transition between the stages of inflammation occurred with considerable delay. A distinct feature of the local immune responses following the use of ultrasound was the increased activity of anti-inflammatory cytokine production along with the suppression of pro-inflammatory cytokine production in relation to the development of the regenerative process.

ВИСНОВКИ

У результаті проведеного дослідження встановлено, що використання УЗС супроводжується менш виразними морфологічними та імунними порушеннями, зміна стадій запалення відбувалася у стислі терміни на тлі підвищення активності продукції протизапальних цитокінів. Встановлено, що засто-

CONCLUSIONS

The study revealed that the use of an ultrasonic scalpel (USS) was associated with less pronounced morphological and immune disturbances. The transition of inflammatory stages occurred within a shorter timeframe, accompanied by increased production of anti-inflammatory cytokines. It was also found that electro-

сування електрохірургічного впливу супроводжується не тільки високою травматичністю, а ще і розвитком пролонгованого некрозу з місцевими імунними реакціями, що необхідно враховувати при формуванні анастомозів органів шлунково-кишкового тракту.

Перебіг регенеративного процесу при використанні УЗС проходив в умовах помірної ішемії, що в комплексі з іншими факторами створювало більш сприятливі умови для загоєння гастро-, ентеро- та колотомних ран.

surgical techniques not only caused higher tissue trauma but also led to the development of prolonged necrosis with local immune responses, which must be considered when forming gastrointestinal anastomoses.

The regenerative process under USS conditions proceeded with moderate ischemia, which, combined with other factors, created more favorable conditions sfor the healing of gastro-, entero-, and colotomy wounds.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Seago M., Shumaker P.R., Spring L.K., Alam M., Al-Niaimi F., Rox Anderson R., et al. Laser Treatment of Traumatic Scars and Contractures: 2020 International Consensus Recommendations. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2020. № 52(2). P. 96–116. DOI: https://doi.org/10.1002/lsm.23201
2. Хворостов Є.Д., Цівенко О.І., Бичков С.О., Гриньов Р.М., Олефіренко О.О. Особливості впливу на тканини електрохірургічної і ультразвукової дисекції та коагуляції при операціях на шлунку і кишечнику. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* 2018. № 1(2). С. 4–13. DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2018-2-01
3. Хіміч О.С., Рауцкіс В.П., Хіміч С.Д., Півторак В.І., Кривонос М.І. Макроскопічна оцінка динаміки ранового процесу при лікуванні інфікованих ран у щурів та застосування імуномодулятора «Бластомулін». *Буковинський м едичний вісник.* 2024. Т. 28, № 2(110) С. 70–77. DOI: https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.2.110.2024.11
4. Voloshyna L.I., Toropov O.A., Boyko I.V., Yatsenko P.I., Steblovskyi D.V., Bukhanchenko O.P., Avetikov D.S. Comparative characteristics of clinical indicators of the condition of scar tissue of the facial skin at different stages of the postoperative period depending on the chronotype of the person. *Wiadomości lekarskie.* 2022. № 75(6). P. 1569–1572. DOI: https://doi.org/10.36740/WLek202206126
5. Нагайчук В.І., Чорнопищук Р.М., Хіміч С.Д., Назарчук О.А., Бурковський М.І., Бобело А.С. Імунологічні критерії ефективності системного використання імуномодулятора мурамілпептидного ряду при лікуванні хворих з опіками. *Харківська хірургічна школа.* 2021. № 2. С. 72–79. DOI: https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.14
6. Хворостов Є.Д., Цівенко О.І., Бичков С.О., Черкова Н.В., Душик Л.М. Вплив електрокоагуляційної, кріо- та ультразвукової обробки ложа жовчного міхура на ультраструктуру печінки після експериментальної холецистектомії. *Проблеми Кріобіології і кріомедицини.* 2020. № 30(2). С 178–187. DOI: https://doi.org/10.15407/cryo30.02.178
7. Аветіков Д.С., Локес К.П., Торопов О.А., Кравченко С.Б., заявник; Полтавський державний медичний університет, власник технології. Технологія клінічної оцінки регенеративних процесів в операцій-них ранах після планових втручань. Реєстраційна картка технології ДРН 0621U000076, No НДДКР 0119U102862, УДК: 616-089; 617.5, 616-001.4-089; дата реєстрації. 01.10.2021.
8. Kerna N.A., Flores J.V., Pruitt K.D., Nwokorie U., Holets H. The application of fullerene derivatives in human nutrition: brain health, immunity, longevity, quality of life, skin tone, sports performance, vitality, and weight loss. *EC Nutrition*. 2020. № 15.11. P. 1–6. DOI: https://doi.org/10.31080/ecnu.2020.15.00873
9. Mahmud F., Roy R., Mohamed M.F., Aboonabi A., Moric M., Ghoreishi K., et al. Therapeutic evaluation of immunomodulators in reducing surgical wound infection. *The FASEB Journal*. 2022. № 36(1). e22090 p. DOI: https://doi.org/10.1096/fj.202101019R
10. Kovalov G.O., Vlasov O.O., Myroshnychenko M.S., Sandomirskiy B.P. Experimental model of skin cryodestruction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine.* 2019. № 29(1). P. 88–101. DOI: https://doi.org/10.15407/cryo29.01.088
11. Торопов О.А. Вплив кріоекстракту плаценти на репаративні процеси після проведення оперативних втручань щелепно-лицевої локалізації в залежності від хронотипу пацієнта. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2022. № 22(3–4). С. 142–147. DOI: https://doi.org/10.31718/2077-1096.22.3.4.142

REFERENCES

1. Seago M, Shumaker PR, Spring LK, Alam M, Al-Niaimi F, Rox Anderson R, et al. Laser Treatment of Traumatic Scars and Contractures: 2020 International Consensus Recommendations. *Lasers in Surgery and Medicine.* 2020;52(2):96–116. DOI: https://doi.org/10.1002/lsm.23201
2. Khvorostov Y, Tsivenko O, Bychkov S, Hrynov R., Olefirenko O. Electrosurgical and ultrasound dissection and coagulation tissue effect features during operations on stomach and intestines. *Actual Problems of Modern Medicine*. 2018;1(2):4–13. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2018-2-01
3. Khimich OS, Rautskis VP, Khimich SD, Pivtorak VI, Kryvonos MI. Macroscopic assessment of the dynamics of the wound process in the treatment of infected wounds in rats using the immunomodulator «BLASTOMUNIL». *Bukovinian Medical Herald*. 2024;28(2(110))):70–7. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.24061/2413- 0737.28.2.110.2024.11
4. Voloshyna LI, Toropov OA, Boyko IV, Yatsenko PI, Steblovskyi DV, Bukhanchenko OP, Avetikov DS. Comparative characteristics of clinical indicators of the condition of scar tissue of the facial skin at different stages of the postoperative period depending on the chronotype of the person. *Wiadomości lekarskie*. 2022;75(6):1569–72. DOI: https://doi.org/10.36740/WLek202206126
5. Nagaichuk VI, Chornopyshchuk RM, Khimich SD, Nazarchuk OA, Burkovskyi MI, Bobelo AS. Immunological criteria for effective systemic use of muramyl peptide immunomodulator in the treatment of patients with burn injuries. *Kharkiv Surgical School*. 2021;(2):72–9. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.14
6. Khvorostov Y, Bychkov S, Tsivenko O, Cherkova N, Dushyk L. Effect of electrocoagulational, cryo- and ultrasound treatment of the gallbladder bed after experimental cholecystectomy. *Problems of cryobiology and cryomedicine.* 2020;30(2):178–87. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.15407/cryo30.02.178
7. Avetikov DS, Lokes KP, Toropov OA, Kravchenko SB, zaiavnyk; Poltavskyi derzhavnyi medychnyi universytet, vlasnyk tekhnolohii. Tekhnolohiia klinichnoi otsinky reheneratyvnykh protsesiv v operatsiinykh ranakh pislia planovykh vtruchan. Reiestratsiina kartka tekhnolohii. DRN 0621U000076, No NDDKR 0119U102862, UDK: 616-089; 617.5, 616-001.4-089; data reiestratsii. 01.10.2021. (In Ukrainian).
8. Kerna NA, Flores JV, Pruitt KD, Nwokorie U, Holets H. The application of fullerene derivatives in human nutrition: brain health, immunity, longevity, quality of life, skin tone, sports performance, vitality, 01and weight loss. *EC Nutrition.* 2020;15.11:1–6 DOI: https://doi.org/10.31080/ecnu.2020.15.00873
9. Mahmud F, Roy R, Mohamed MF, Aboonabi A, Moric M, Ghoreishi K, et al. Therapeutic evaluation of immunomodulators in reducing surgical wound infection. *The FASEB Journal.* 2022;36(1):e22090. DOI: https://doi.org/10.1096/fj.202101019R
10. Kovalov GO, Vlasov OO, Myroshnychenko MS, Sandomirskiy BP. Experimental model of skin cryodestruction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine.* 2019;29(1):88–101. DOI: https://doi.org/10.15407/cryo29.01.088
11. Toropov O. The effect of placenta cryoextract on reparative processes after maxillofacial surgery, depending on the patient's chronotype. *Actual problems of the modern medicine: Bulletin of ukrainian medical stomatological academy*, 2022;22(3–4):142–7. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.31718/2077-1096.22.3.4.142

Перспективи подальших досліджень

Продовження вивчення закономірностей та особливостей перебігу репаративних процесів залежно від етіологічного фактора, місцевих особливостей, наявності коморбідної патології та інших чинників при патології органів черевної порожнини, яка потребує хірургічної корекції, є перспектив ним у сучасних умовах зростання кількості пацієнтів із захворюваннями органів травлення.

Prospects for further research

Continuing to study the patterns and characteristics of reparative processes depending on etiological factors, local specifics, the presence of comorbidities, and other factors in abdominal organ pathologies requiring surgical intervention holds promise in the context of the growing number of patients with gastrointestinal diseases.

Конфлікт інтересів / Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

The authors of the manuscript consciously declare the absence of any actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, and other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject of the provided materials or who sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування / Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України.
Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри хірургічних хвороб Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України «Вивчення дії фізичних методів та морфофункціонального стану судин, тканин шлунка, тонкого та товстого кишечника при їх дисекції та коагуляції у хірургії шлунково-кишкового тракту», номер державної реєстрації 0106U001585, прикладна, керівник – завідувач кафедри хірургічних хвороб медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, доктор медичних наук, професор Є.Д. Хворостов.

Financed by the State budget of Ukraine.
This article is a fragment of the planned scientific research work of the Department of Surgical Diseases at V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, «Study of the effects of physical methods and the morpho-functional state of vessels, tissues of the stomach, small and large intestines during their dissection and coagulation in gastrointestinal surgery», state registration number 0106U001585, applied research, head of the study, Head – head of the Department of Surgical Diseases of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Doctor of Medical Sciences, Professor Ye.D. Khvorostov.

Подяка / Acknowledgments

Висловлюємо подяку колективам медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедрі хірургічних хвороб Науково-дослідного інституту проблем кріобіології та кріомедицини Національної академії наук України і хірургічного відділення Харківської клінічної лікарні на залізничному транспорті № 2 (Філія «Центр охорони здоров'я» Акціонерне товариство «Українська залізниця») за сприяння в проведенні лікувальної та наукової роботи й підготовки статті до друку.

We express our gratitude to the teams of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, the Department of Surgical Diseases, the Research Institute of Cryobiology and Cryomedicine Problems of the National Academy of Sciences of Ukraine, and the Surgical Department of Kharkiv Clinical Hospital № 2 on Railway Transport (Branch «Healthcare Center» of the Joint Stock Company «Ukrainian Railways») for their assistance in conducting medical and scientific work and preparing this article for publication.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ / INFORMATION ABOUT AUTHORS

Цівенко Олексій Іванович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри хірургічних хвороб Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua
моб.: +38 (067) 727-16-40
Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, написання тексту статті.*

Козаченко Андрій Валерійович – лікар фізичної, бальнеологічної, лікувальної реабілітації Товариства з обмеженою відповідальністю SPA Курорт Брусно; вул. Курортна, буд. 1/2, м. Брусно, Словацька Республіка, 976 62;
e-mail: kozach1971@gmail.com;
моб.: +38 (050) 325-46-36
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, збір клінічних даних.*

Шморгун Володимир Володимирович – аспірант кафедри хірургічних хвороб Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: toxikoz3@ukr.net
моб.: +38 (099) 154-78-55
Внесок автора: *підбір літературних джерел.*

Tsivenko Oleksij Ivanovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Surgical Diseases V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua
tel.: +38 (067) 727-16-40
Author's contribution: *formulating the research objective, conducting experimental studies, analyzing the obtained data, and their statistical processing, writing the article text.*

Kozachenko Andriy Valeriyovych – Physician of physical medicine, balneology, and therapeutic rehabilitation, Kúpele Brusno SPA Limited Liability Company, Kúpeľná 1/2, Brusno, Slovak Republic, 976 62;
e-mail: kozach1971@gmail.com
tel.: +38 (050) 325-46-36
Author's contribution: *selection of literary sources on the topic of the work, collection of clinical data.*

Shmorhun Volodymyr Volodymyrovych – Postgraduate student, Department of Surgical Diseases of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: toxikoz3@ukr.net
tel: +38 (099) 154-78-55
Author's contribution: *selection of literary sources.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 12.09.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 19.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 183–191
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):183–191 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-07
УДК: 616.211-002.34-092.19:612.017

Мікробіоценоз слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа

Попов М.М.[1], https://orcid.org/0000-0002-5759-9654, e-mail: mykola.m.popov@karazin.ua
Самусенко Д.С.[1,2], https://orcid.org/0009-0001-0290-5861, e-mail: samusenko1213@gmail.com
Огнівенко О.В.[1], https://orcid.org/0000-0003-3936-0305, e-mail: o.ognivenko@karazin.ua

[1]Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Комунальне некомерційне підприємство Харківської міської ради «Міська клінічна лікарня № 30», Харків, Україна

Microbiocenosis of the nasal mucosa in patients with generalized furunculosis complicated by nasal furuncle

Popov M.M.[1], https://orcid.org/0000-0002-5759-9654, e-mail: mykola.m.popov@karazin.ua
Samusenko D.S.[1,2], https://orcid.org/0009-0001-0290-5861, e-mail: samusenko1213@gmail.com
Ohnivenko O.V.[1], https://orcid.org/0000-0003-3936-0305, e-mail: o.ognivenko@karazin.ua

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Communal non-commercial enterprise of the Kharkiv City Council «City Clinical Hospital № 30», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

фурункульоз носа, імунна відповідь, мікробіоценоз.

Для кореспонденції:

Попов Микола Миколайович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: mykola.m.popov@karazin.ua

© Попов М.М., Самусенко Д.С., Огнівенко О.В., 2024.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Інфекційно-запальні захворювання обличчя є грізною патологією, здатною призводити до розвитку внутрішньочерепних, внутрішньоорбітальних гнійних ускладнень та сепсису, із загрозою для здоров'я і життя хворого. Фурункул носа є одним з цієї групи захворювань, який часто зустрічається в отоларингологічній практиці. Частота цієї патології в останні роки залишається високою. Кількість хворих, що надходять до стаціонарів, не зменшується.

Провідну роль у розвитку і перебігу захворювання фурункула носа відіграють інфекційні збудники. Розвиток патологічного процесу в носі при загальному фурункульозі залежить від вірулентності мікробів, стану загального та місцевого імунітету і, як наслідок, від якісного складу мікробних спільнот, присутніх на слизовій оболонці носа. Чіткої грані між нормальною мікрофлорою і умовно-патогенними бактеріями не існує. На сьогодні всебічно не вивчені кількісні та якісні зміни в мікробних спільнотах у взаємозв'язку зі станом імунітету у пацієнтів із захворюваннями ЛОР-органів і верхніх дихальних шляхів. Такі знання дуже важливі при визначенні тактики лікування цієї групи хворих.

Мета роботи – визначення кількісного і якісного складу мікрофлори слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, і чутливості ізолятів до антимікробних засобів.

Матеріали і методи. Дослідження виконано на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України. У групу обстеження увійшли хворі, що знаходились на лікуванні в Комунальному некомерційному підприємстві «Міська клінічна лікарня № 30» (м. Харків), з діагнозом: загальний фурункульоз (МКХ-10: L02), ускладнений фурункулом носа (МКХ-10: J34.0).

У дослідну групу були включені дві категорії хворих: 1-ша група – хворі на загальний фурункульоз (30 осіб), 2-га група – хворі на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа (30 осіб). Вік обстежених хворих складав 22–45 років. Контрольну групу склали 30 здорових осіб відповідного віку.

Мікробіологічні дослідження слизової оболонки виконувались за загально прийнятою технологією: посів на тверді та рідкі посівні середовища фірми «Bio Merieux» (Франція): для аеробних і факультативних бактерій – шоколадний агар з PVX; для анаеробних бактерій – Шедлер агар + 5% еритроцитів барана, для грибів – агар Сабуро з гентаміцином + хлорамфеніколем. Культивування

матеріалу на поживчих середовищах здійснювали у термостаті при температурі 37°С 3–5 діб, анаеробних культур – мікроанаеростаті фірми «Bio Merieux».
Ідентифікацію вилучених культур мікробів проводили за їх морфолого-культуральними властивостями, біохімічними ознаками і серологічними характеристиками. За результатами кількісних досліджень мікрофлору подавали у колонієутворюючих одиницях в перерахунку на 1 мг-КУ0/мл. Антибіотикорезистентність мікрофлори вивчали диско-дифузіонним методом.
Результати та їх обговорення. У хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, ступінь колонізації слизової оболонки носа значно вищий, ніж у хворих на загальний фурункульоз і здорових осіб.
У хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, мікрофлора слизової оболонки представлена виключно бактеріальними і мікобактеріальними асоціаціями, які складаються з трьох і більше мікробів. У хворих на загальний фурункульоз мікрофлора носа представлена як монофлорою (46,6%), так і бактеріальними асоціаціями, які складаються з двох видів мікробів (50,0%).
Висновки. Особливістю мікрофлори слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, є висока антибіотикорезистентність та вірулентність мікробів, високий ступінь колонізації, присутність у мікробних асоціаціях грибів рода Candida та анаеробів.

Для цитування:

Попов М.М., Самусенко Д.С., Огнівенко О.В. Мікробіоценоз слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 183–191. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-07

Key words:

nasal furunculosis, immune response, microflora.

For correspondence:

Popov Mykola Mykolayovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: mykola.m.popov@karazin.ua

© *Popov M.M., Samusenko D.S., Ohnivenko O.V., 2024*

ABSTRACT

Background. Infectious-inflammatory illness is a serious pathology that can lead to the development of intracranial, internal orbital purulent complications and sepsi. Nasal furuncle is one of the group of illnesses that often occurs in ENT practice.
The frequency of this pathology remains high, although the number of patients admitted to hospitals does not change. Infectious diseases play a major role in the development and resolution of nasal boils.
There is no clear line between normal microflora and mentally pathogenic bacteria. At this time, there are no significant changes in microbial sedation in relation to the immune system in patients with illnesses in the ENT organs and upper respiratory tract. This knowledge is very important for choosing treatment for this group of patients.
Purpose – determination of the quantitative and qualitative composition of the microflora of the nasal mucosa of patients with general furunculosis complicated by a nasal furuncle and the sensitivity of isolates to antimicrobial agents.
Materials and methods. The study was performed at the clinical base of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine. The examination group included patients who were being treated at the Communal Non-Commercial Enterprise of the Kharkiv City Council «City Clinical Hospital № 30», with a diagnosis of general furunculosis (МКХ-10: L02) complicated by nasal furuncle (МКХ-10: J34.0).
Two categories of patients were included in the experimental group: 1st group – patients with general furunculosis (30 people), 2nd group – patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle (30 people). The age of the patients was 22–45 years. The control group consisted of 30 healthy people of the appropriate age.
Microbiological studies of the mucous membrane were carried out according to the generally accepted technology: inoculation on solid and liquid culture media of the company «Bio Merieux» (France): for aerobic and facultative bacteria – chocolate agar with PVC; for anaerobic bacteria – Schedler agar + 5% ram erythrocytes, for fungi – Saburo agar with gentamicin + chloramphenicol.
Cultivation of the material on nutrient media was carried out in a thermostat at a temperature of 37°C for 3–5 days, anaerobic cultures – microanaerostat of the company «Bio Merieux».
Identification of the removed microbial cultures was carried out by their morphological and cultural properties, biochemical signs and serological characteristics. According to the results of quantitative studies, the microflora was presented in colony-forming units in terms of 1mg-KU0/ml.
Antibiotic resistance of the microflora was studied by the disk-diffusion method.
Results and discussion. In patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle, the degree of colonization of the nasal mucosa is significantly higher than in patients with general furunculosis and healthy individuals.
In patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle, the microflora of the mucous membrane is represented exclusively by bacterial and mycobacterial associations consisting of three or more microbes. In patients with general furuncu-

losis, the microflora of the nose is represented by both monoflora (46.6%) and bacterial associations consisting of two types of microbes (50.0%).
Conclusions. A feature of the microflora of the nasal mucosa of patients with general furunculosis complicated by a nasal furuncle is high antibiotic resistance and virulence of microbes, a high degree of colonization, the presence of Candida fungi and anaerobes in the microbial associations.

For citation:

Popov MM, Samusenko DS, Ohnivenko OV. Microbiocenosis of the nasal mucosa in patients with generalized furunculosis complicated by nasal furuncle. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):183–191. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-07

ВСТУП

Інфекційно-запальні захворювання обличчя є грізною патологією, здатною призводити до розвитку внутрішньочерепних, внутрішньоорбітальних гнійних ускладнень та сепсису, із загрозою для здоров'я й життя хворого [1–3]. Фурункул носа є одним із цієї групи захворювань, який часто зустрічається в отоларингологічній практиці. Частота цієї патології в останні роки залишається високою. Кількість хворих, що надходять до стаціонарів, не зменшується [4, 5].

Провідну роль у розвитку і перебігу захворювання фурункула носа відіграють інфекційні збудники [6–8]. Розвиток патологічного процесу в носі при загальному фурункульозі залежить від вірулентності мікробів, стану загального та місцевого імунітету і, як наслідок, від якісного складу мікробних спільнот, присутніх на слизовій оболонці носа. Мікробіоценоз – це екологічна система, яка зберігається за рахунок безперервного динамічного балансу між мікро- і макроорганізмами. Чіткої грані між нормальною мікрофлорою і умовно-патогенними бактеріями не існує. На сьогодні всебічно не вивчені кількісні та якісні зміни в мікробних спільнотах у взаємозв'язку зі станом імунітету у пацієнтів із захворюваннями ЛОР-органів і верхніх дихальних шляхів. Такі знання дуже важливі при визначенні тактики лікування цієї групи хворих.

Мета роботи – визначення кількісного і якісного складу мікрофлори слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, і чутливості ізолятів до антимікробних засобів.

INTRODUCTION

Infectious-inflammatory diseases of the face are a formidable pathology that can lead to the development of intracranial, intraorbital purulent complications and sepsis, with a threat to the health and life of the patient [1–3].

Nasal furuncle is one of this group of diseases, which is often encountered in ENT practice. The frequency of this pathology in recent years remains high, the number of patients admitted to hospitals does not decrease [4, 5].

Infectious agents play a leading role in the development and course of nasal furuncle [6–8]. The development of the pathological process in the nose with general furunculosis depends on the virulence of microbes, the state of general and local immunity and, as a result, on the qualitative composition of the microbial communities that are present on the mucous membrane of the nose.

Microbioceanosis is an ecological system that is maintained due to a continuous dynamic balance between micro- and macro-organisms. There is no clear line between normal microflora and opportunistic bacteria.

At this time, quantitative and qualitative changes in microbial communities in relation to the state of immunity in patients with diseases of the ENT organs and upper respiratory tract have not been comprehensively studied. Such knowledge is very important when determining the tactics of treatment of this group of patients.

Purpose – etermination of the quantitative and qualitative composition of the microflora of the nasal mucosa of patients with general furunculosis complicated by a nasal furuncle and the sensitivity of isolates to antimicrobial agents.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України. Дизайн роботи погоджений з комісією з питань біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України із висновком про відповідність до вимог морально-етичних норм біоетики, згідно з правилами ICH/GCP, Гельсінської декларації прав людини (1964), Конвенції Ради Європи по правах людини та біомедицини (1997), а також чинним законодавством України [9].

У групу обстеження увійшли хворі, що знаходились на лікуванні в Комунальному некомерційному під-

MATERIALS AND METHODS

The study was performed at the clinical base of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine within the framework of the research topic: «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis of the infectious process caused by bacteria, viruses, viral-bacterial associations in the acute, prolonged and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics». State registration number 0123U105022. Design of a robotic study with a commission from the nutrition of bioetics of the School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University with a view to compliance with the Helsinki Declaration of Human Rights (1964) [9].

приємстві «Міська клінічна лікарня № 30» (м. Харків), з діагнозом: загальний фурункульоз (МКХ-10: L02), ускладнений фурункулом носа (МКХ-10: J34.0).

У дослідну групу були включені дві категорії хворих: 1-ша група – хворі на загальний фурункульоз (30 осіб), 2-га група – хворі на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа (30 осіб). Вік обстежених хворих складав 22–45 років. Контрольну групу склали 30 здорових осіб відповідного віку.

Мікробіологічні дослідження слизової оболонки виконувались за загально прийнятою технологією: посів на тверді та рідкі посівні середовища фірми «Bio Merieux» (Франція): для аеробних і факультативних бактерій – шоколадний агар з PVX; для анаеробних бактерій – Шедлер агар + 5% еритроцитів барана, для грибів – агар Сабуро з гентаміцином + хлорамфеніколем. Культивування матеріалу на поживчих середовищах здійснювали у термостаті при температурі 37°С 3–5 діб, анаеробних культур – мікроанаеростаті фірми «Bio Merieux».

Ідентифікацію вилучених культур мікробів проводили за їх морфолого-культуральними властивостями, біохімічними ознаками і серологічними характеристиками. За результатами кількісних досліджень мікрофлору подавали у колонієутворюючих одиницях в перерахунку на 1 мг-КУО/мл [10]. Антибіотикорезистентність мікрофлори вивчали дисково-дифузіонним методом.

The examination group included patients who were being treated at the Communal Non-Commercial Enterprise of the Kharkiv City Council «City Clinical Hospital № 30», with a diagnosis of general furunculosis (МКХ-10: L02) complicated by nasal furuncle (МКХ-10: J34.0).

Two categories of patients were included in the experimental group: 1st group – patients with general furunculosis (30 people), 2nd group – patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle (30 people). The age of the examinees was 22–45 years. The control group consisted of 30 healthy people of the appropriate age.

Microbiological studies of the mucous membrane were carried out according to the generally accepted technology: inoculation on solid and liquid culture media of the company «Bio Merieux» (France): for aerobic and facultative bacteria – chocolate agar with PVC; for anaerobic bacteria – Schedler agar + 5% sheep erythrocytes, for fungi – Saburo agar with gentamicin + chloramphenicol. Cultivation of the material on nutrient media was carried out in a thermostat at a temperature of 37°C for 3–5 days, anaerobic cultures – microanaerostat of the company «Bio Merieux».

Identification of the removed microbial cultures was carried out by their morphological and cultural properties, biochemical signs and serological characteristics. According to the results of quantitative studies, the microflora was presented in colony-forming units in terms of 1 mg-KU0/ml [10]. Antibiotic resistance of the microflora was studied by the disk-diffusion method.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При вивченні мікрофлори слизової оболонки носа було вилучено 46 культур мікробів у хворих на загальний фурункульоз (1-ша група), 85 культур мікробів у хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа (2-га група), і 34 ізоляти у здорових осіб (контрольна група).

Серед ізолятів у хворих 1-ї групи встановлено 6 родів і 11 видів бактерій, у хворих 2-ї групи – 10 родів і 16 видів мікробів, у групі контролю – відповідно 3 і 9. У хворих 1-ї та 2-ї груп колонізація слизової оболонки носа була представлена більш численними різними видами мікроорганізмів, порівняно зі здоровими особами. В 1-й групі ступінь колонізації дорівнював 10^5 КУО/мл, у 2-й групі – 10^6–10^7 КУО/мл, у контролі – 10^4 КУО/мл (табл.1).

У хворих 2-ї групи ступінь колонізації слизової оболонки носа був значно вище, ніж у хворих 1-ї групи. У хворих 2-ї групи, в порівнянні із хворими 1-ї групи, у більшій кількості висівались S.aureus, S.delphini, S.intermedius, які належать до коагулопозитивних мікробів з часткою ступеня вірулентності. У 23,3% хворих 2-ї групи зі слизової оболонки носа висівались анаеробні бактерії – Porphyromanas gingivalis, Prevotella oralis, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides forsythus (табл. 1).

У хворих 1-ї групи і здорових осіб ці види мікробів не висівались. Також у більшій кількості хворих 2-ї групи, в порівнянні із хворими 1-ї групи, вилучались гриби роду Candida. В 2-й групі гриби вилучались у 20.0% осіб, у 1-й групі – у 3,3% осіб. У контрольній групі вони зовсім не висівались.

RESULTS AND DISCUSSION

When studying the microflora of the nasal mucosa, 46 microbial cultures were extracted from patients with general furunculosis (group 1), 85 microbial cultures from patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle (group 2) and 34 isolates from healthy individuals (control group).

Among the isolates, 6 genera and 11 species of bacteria were found in patients of group 1, 10 genera and 16 types of microbes were found in patients of group 2, and 3 and 9 in the control group, respectively. In patients of groups 1 and 2, colonization of the nasal mucosa was more numerous by various types of microorganisms in comparison with healthy persons. In group 1, the degree of colonization was equal to 10^5 CFU/ml, in group 2 – 10^6–10^7 CFU/ml, in control – 104 CFU/ml (Table 1).

In patients of group 2, the degree of colonization of the nasal mucosa was significantly higher than in patients of group 1. In patients of group 2, in comparison with patients of group 1, S.aureus, S.delphini, S.intermedius, which belong to coagulase-positive microbes with a partial degree of virulence, were sown in larger quantities. In 23.3% of patients, 2 groups of anaerobic bacteria were cultured from the nasal mucosa – Porphyromanas gingivalis, Prevotella oralis, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides forsythus (Table 1).

These types of microbes were not cultured in group 1 patients and healthy individuals. Also, in a larger number of patients of group 2 compared to patients of group 1, fungi of the genus Candida were removed. In group 2, mushrooms were removed from 20.0% of people, in group 1 – from 3.3% of people. In the control group, they were not identified.

Таблиця 1. Мікрофлора слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз та на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа
Table 1. Microflora of the nasal mucosa of patients with general furunculosis and general furunculosis complicated by nasal furuncle

№	Мікроорганізми Microorganisms	Група хворих / Groups of patients				Контрольна група / Control group (n=30)	
		1 (n=30)		2 (n=30)			
		абс.к. abs. amount %	ступінь колонізації, КУО/мл degree of colonization, CFU/ml	абс.к. abs. amount %	ступінь колонізації, КУО/мл degree of colonization, CFU/ml	абс.к. abs.amount %	ступінь колонізації, КУО/мл degree of colonization, CFU/ml
1	S.aureus	9/30,0	(4,5+1,3) × 10^5	16/53,3	(2,3+1,3) × 10^7	9/30,0	(3,8+1,2) × 10^4
2	S.epidermidis	11/36,6	(7,1+2,4) × 10^5	14/46,6	(8,5+2,1) × 10^6	11/36,6	(4,5+1,3) × 10^4
3	S.intermedius	2/6,6	3 × 10^5, 6 × 10^5	5/16,6	(9,4+2,3) × 10^6	1/3,3	6 × 10^4
4	S.delphini	2/6,6	2 × 10^5, 6 × 10^5	4/13,3	(1,5+0,6) × 10^7	1/3,3	8 × 10^4
5	S.haemolyticus	3/10,0	(5,6+1,8) × 10^5	6/20,0	(2,1+1,1) × 10^7	1/3,3	3 × 10^4
6	C.albicans	1/3,3	3 × 10^5	6/20,0	(2,4+1,1) × 10^6	0/0	0
7	S.saprophyticus	5/16,6	(8,6+2,3) × 10^5	6/20,0	(1,9+0,9) × 10^7	6/20	(4,9+1,4) × 10^4
8	S.pneumoniae	3/10,0	(4,1+1,8) × 10^5	4/13,3	(7,3+2,1) × 10^6	1/3,3	6 × 10^4
9	E.faecalis	3/10,0	(6,2+2,1) × 10^5	5/16,6	(8,7+3,4) × 10^6	0/0	0
10	S.pyogenes	4/13,3	(6,4+2,1) × 10^5	6/20,0	(3,5+1,2) × 10^6	3/10	(2,1+0,9) × 10^4
11	M.catarrhalis	2/6,6	4 × 10^5, 7 × 10^5	3/10,0	(6,8+1,8) × 10^6	0/0	0
12	H.influenzae	2/6,6	1 × 10^6, 6 × 10^5	3/10,0	(8,3+2,4) × 10^6	1/3,3	2 × 10^5
13	Porphyromonas gingivalis	0/0	0	3/10,0	(2,9+1,2) × 10^6	0/0	0
14	Prevotella oralis	0/0	0	1/3,3	3 × 10^6	0/0	0
15	Actinobacillus actinomicetemcomitans	0/0	0	1/3,3	3 × 10^6	0/0	0
16	Bacteroides forsythus	0/0	0	1/3,3	9 × 10^6	0/0	0

В ході аналізу мікробіоценозу слизової оболонки носа вилучені мікроорганізми були представлені у 46,6% хворих 1-ї групи монофлорою і у 50, 0% – бактеріальними асоціаціями, які складались з двох мікробів (табл. 2).

When analyzing the microbiocenosis of the nasal mucosa, the microorganisms removed were represented in 46.6% of patients of group 1 by monoflora and in 50.0% by bacterial associations consisting of 2 microbes (Table 2).

Таблиця 2. Кількість мікробів в асоціаціях хворих на загальний фурункульоз та на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа
Table 2. The number of microbes in the associations of patients with general furunculosis and general furunculosis complicated by a boil in the nose

Група хворих Groups of patients	Загальна та відносна кількість хворих з мікрофлорою та мікробними асоціаціями Total and relative number of patients with microflora and microbial associations			
	Монофлора Monoflora	Кількість мікробів в асоціації The number of microbes in the association		
		2	3	4
1-ша група / Group 1 (n=30)	14/46,6	15/50,0	1/3,3	0/0
2-га група / Group 2 (n=30)	0/0	9/30,0	17/56,6	4/13,3
Контрольна група / Control group (n=30)	26/86,6	4/13,3	0/0	0/0

У хворих 2-ї групи мікрофлора була представлена виключно бактеріальними і мікобактеріальними асоціаціями, які включали 3 і більше видів мікробів (табл. 2). У 30% хворих мікробні асоціації включали два види мікробів, у 56,6% – три види мікробів, у 13,3% – чотири види мікробів. У хворих 2-ї групи до складу мікробних асоціацій входили гриби рода Candida, що свідчило про зниження у цих хворих клітинної ланки місцевого імунітету. У хворих 2-ї групи, як і у хворих 1-ї групи, серед вилучених мікробів частіше всього зустрічались S.aureus і S.epidermidis.

In patients of group 2, the microflora was represented exclusively by bacterial and mycobacterial associations, which included 3 or more types of microbes (Table 2). In 30% of patients, microbial associations included 2 types of microbes, in 56.6% – 3 types of microbes, in 13.3% – 4 types of microbes.

In patients of group 2, the composition of microbial associations included fungi of the genus Candida, which indicated a decrease in the cellular link of local immunity in these patients. In patients of group 2, as well as in patients of group 1, among the extracted microbes,

73% вилучених ізолятів у хворих 2-ї групи були здатні до α- і β-гемолізу, у хворих 1-ї групи – 17%.

Під час вивчення чутливості до антибіотиків у ізолятів, які найбільш часто вилучались зі слизової носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, було встановлено, що всі види мікробів виявляли високу резистентність до пеніцилінів, цефалоспоринів, аміноглікозидів та фторхінолонів (табл 3).

S.aureus and S.epidermidis were most often found. 73% of isolated isolates from patients of group 2 were capable of α- and β-hemolysis, 17% from patients of group 1.

When studying the sensitivity to antibiotics in isolates that were most often removed from the nasal mucosa of patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle, it was established that all types of microbes showed high resistance to penicillins, cephalosporins, aminoglycosides, and fluoroquinolones (Table 3).

Таблиця 3. Чутливість мікробів слизової оболонки носа до антибіотиків
Table 3. Sensitivity of nasal mucosa microbes to antibiotics

Мікроорганізми Microorganisms	Кількість вилучених ізолятів The number of removed insulators	Кількість ізолятів, які чутливі до антибіотиків Number of isolates that are sensitive to antibiotics										
		Пеніцилін Penicillins		Цефалоспорини Cephalosporins				Аміноглікозидис Aminoglycosides	Фторхінолони Fluoroquinolones			
		Амоксицилін Amoxicillin	Ампіцилін Ampicillin	Цефалексин Cephalexin	Цефуроксим Cefuroxime	Цефтріаксон Ceftriaxone	Цефотаксим Cefotaxime	Гентаміцин Gentamicin	Офлоксацин Ofloxacin	Норфлоксацин Norfloxacin	Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	Гатифлоксацин Gatifloxacin
S.aureus	16	$11^{-}/3^{+}/2^{++}$	$14^{-}/^{+}1^{++}$	$10^{-}/4^{+}/2^{++}$	$10^{-}/3^{+}/3^{++}$	$8^{-}/3^{+}/5^{++}$	$8^{-}/2^{+}/6^{++}$	$11^{-}/3^{+}/2^{++}$	$5^{-}/3^{+}/7^{++}$	$8^{-}/3^{+}/5^{++}$	$5^{-}/3^{+}/8^{++}$	$4^{-}/4^{-}/8^{++}$
S.epidermidis	14	$12^{-}/2^{+}$	14^{-}	14^{-}	$12^{-}/2^{+}$	$12^{-}/2^{+}$	$12^{-}/2^{+}$	$12^{-}/1^{+}/1^{++}$	$12^{-}/2^{+}$	$13^{-}/1^{+}$	$12^{-}/2^{+}$	$12^{-}/1^{+}/1^{++}$
S.haemolyticus	6	$3^{-}/1^{+}/2^{++}$	$3^{-}/2^{+}/1^{++}$	$3^{-}/2^{+}/1^{++}$	$1^{-}/2^{+}/3^{++}$	$3^{-}/3^{+}$	$1^{-}/2^{+}/3^{++}$	$2^{-}/2^{+}/2^{++}$	$1^{-}/2^{+}/3^{++}$	$1^{-}/2^{+}/4^{++}$		
S.saprophyticus	6	$3^{-}/2^{+}/1^{++}$	$3^{-}/2^{+}/1^{++}$	$3^{-}/2^{+}/1^{++}$	$2^{-}/2^{+}/2^{++}$	$3^{-}/1^{+}/2^{++}$	$2^{-}/2^{+}/2^{++}$	$4^{-}/2^{+}$	$2^{-}/3^{+}/1^{++}$	$2^{-}/3^{+}/1^{++}$	$2^{-}/2^{+}/2^{++}$	$1^{-}/3^{+}/2^{++}$
S.pyogenes	6	$2^{-}/1^{+}/3^{++}$	$2^{-}/2^{+}/2^{++}$	$2^{-}/2^{+}/2^{++}$	$1^{-}/3^{+}/2^{++}$	$1^{-}/3^{+}/2^{++}$	$1^{-}/3^{+}/2^{++}$	$2^{-}/3^{+}/1^{++}$	$1^{-}/3^{+}/2^{++}$	$2^{-}/3^{+}/1^{++}$	$2^{+}/4^{++}$	$2^{+}/4^{++}$
S.intermedius	5	$2^{-}/2^{+}/1^{++}$	$2^{-}/3^{++}$	$2^{-}/3^{+}$	$1^{-}/4^{+}$	$1^{-}/3^{+}/1^{++}$	$1^{-}/3^{+}/1^{++}$	$3^{-}/2^{+}$	$2^{-}/2^{+}/1^{++}$	$2^{-}/2^{+}/1^{++}$	$2^{-}/1^{+}/2^{++}$	$1^{-}/2^{+}/2^{++}$

Примітка: «–» не чутливі, «+» слабо чутливі, «++» чутливі
Note: «–» are not sensitive, «+» are weakly sensitive, «++» are sensitive.

S.aureus, S.haemolyticus, S.pyogenes виявили найбільшу чутливість до антибіотиків класу фторхінолону, S.epidermidis, S.intermedius та S.Saprophyticus – були однаково низькочутливі до всієї ланки антибіотиків. Слід зазначити, що ізоляти S.aureus та S.epidermidis, вилучені від хворих на загальний фурункульоз, на відміну від хворих на загальний фурункульоз носа ускладнений фурункулом, виявляли помірну чутливість до антибіотиків, ряду цефалоспоринів та фторхінолонів, а ізоляти цих мікробів, які були отримані від здорових осіб (контрольна група), виявляли високу чутливість до всього класу антибіотиків.

Узагальнюючи, можна констатувати, що особливістю мікрофлори слизової оболонки носа хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, є висока антибіотикорезистентність та вірулентність мікробів, високий ступінь колонізації, присутність у мікробних асоціаціях грибів рода Candida та анаеробів.

Слід зазначити, що присутність у мікрофлорі носа високовірулентних та антибіотикорезистентних бактерій, є важливим чинником розвитку запальних процесів у тканинах носа, ураження хрящової та кісткової тканини, виникнення ускладнень, таких як гнійний отит, гайморит, фронтит, ангіни, а також розповсюдження інфекції на інші органи, включаючи структури головного мозку. Таким чином, присутність антибіотикорезистентних штамів у слизовій оболонці

S.aureus, S.haemolyticus, S.pyogenes showed the highest sensitivity to antibiotics of the fluoroquinolone class, S.epidermidis, S.intermedius and S.Saprophyticus – were equally low sensitive to the entire range of antibiotics. It should be noted that isolates of S.aureus and S.epidermidis recovered from patients with general furunculosis, in contrast to patients with general furunculosis of the nose, showed moderate sensitivity to antibiotics, a number of cephalosporins and fluoroquinolones, and isolates of these microbes, which were obtained from healthy individuals (control group), showed high sensitivity to the entire class of antibiotics.

Summarizing, it can be stated that a feature of the microflora of the nasal mucosa of patients with general furunculosis complicated by a nasal furuncle is high antibiotic resistance and virulence of microbes, a high degree of colonization, and the presence of Candida fungi and anaerobes in microbial associations.

It should be noted that the presence of highly virulent and antibiotic-resistant bacteria in the microflora of the nose is an important factor in the development of inflammatory processes in the tissues of the nose, damage to cartilage and bone tissue, the occurrence of complications, such as purulent otitis, sinusitis, frontitis, tonsillitis, as well as the spread of infection to other organs. including brain structures. In turn, the presence of antibiotic-resistant strains in the nasal mucosa creates difficulties in the treatment of the inflammatory process

носа створює труднощі в лікуванні запального процесу і потребує нетрадиційного підходу в тактиці ведення таких хворих. Також висока колонізація слизової оболонки носа високовірулентними і антибіотикорезистентними штамами бактерій здатна пригнічувати місцевий імунітет, а зниження місцевої імунореактивності, в свою чергу, сприяє розвитку інфекції і запалення. Все це вказує на необхідність всебічного вивчення багатофакторності виникнення і розвитку інфекційних захворювань носа і прилеглих тканин.

and requires an unconventional approach in the management of such patients. Also, high colonization of the nasal mucosa with highly virulent and antibiotic-resistant strains of bacteria can suppress local immunity, and a decrease in local immunoreactivity, in turn, contributes to the development of infection and inflammation. All this indicates the need for a comprehensive study of the multifactorial nature of the occurrence and development of infectious diseases of the nose and adjacent tissues.

ВИСНОВКИ

У хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа (2-га група), ступінь колонізації слизової носа значно вищий, ніж у хворих на загальний фурункульоз (1-ша група) і здорових осіб.

У хворих 2-ї групи 73% вилучених ізолятів були здатні до α- і β-гемолізу, у хворих 1-ї групи – 17%.

У хворих 2-ї групи, на відміну від хворих 1-ї групи, видовий склад мікрофлори слизової оболонки носа містить анаероби і гриби рода Candida та коагулопозитивні стафілококи.

У хворих на загальний фурункульоз, ускладнений фурункулом носа, мікрофлора слизової оболонки представлена виключно бактеріальними і мікобактеріальними асоціаціями, які складаються з трьох і більше мікробів. У хворих на загальний фурункульоз мікрофлора носа представлена як монофлорою (46,6%), так і бактеріальними асоціаціями, які складаються з двох видів мікробів (50,0%).

Мікрофлора хворих 2-ї групи, на відміну від хворих 1-ї групи і здорових осіб, виявляє високу резистентність до всіх класів антибіотиків.

CONCLUSIONS

In patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle (group 2), the degree of colonization of the nasal mucosa is significantly higher than in patients with general furunculosis (group 1) and healthy individuals.

In patients of group 2,73% of the extracted isolates were capable of α- and β-hemolysis, in patients of group 1 – 17%.

In patients of group 2, in contrast to patients of group 1, the species composition of the microflora of the nasal mucosa includes anaerobes and fungi of the genus Candida and coagulase-positive staphylococci.

In patients with general furunculosis complicated by nasal furuncle, the microflora of the mucous membrane is represented exclusively by bacterial and mycobacterial associations consisting of three or more microbes. In patients with general furunculosis, the microflora of the nose is represented by both monoflora (46.6%) and bacterial associations consisting of two types of microbes (50.0%).

The microflora of patients of group 2, in contrast to patients of group 1 and healthy individuals, shows high resistance to all classes of antibiotics.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ibler K.S., Kromann C.B. Recurrent furunculosis – challenges and management: a review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology.* 2014. Т. 7. P. 59–64. DOI: https://doi.org/10.2147/CCID.S35302
2. Shallcross L.J., Hayward A.C., Johnson A.M., Petersen I. Evidence for increasing severity of community-onset boils and abscesses in UK general practice. *Epidemiology and Infection.* 2015. Т. 143, № 11. P. 2426–2429. DOI: https://doi.org/10.1017/S0950268814003458
3. Sakr A., Brégeon F., Rolain J.M., Blin O. Staphylococcus aureus nasal decolonization strategies: a review. *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* 2019. Т. 17, № 5. P. 327–340. DOI: https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1604220
4. Anzai T., Tsunoda A., Saikawa Y., et al. Cryosurgical ablation for treatment of common warts on the nasal vestibule. *American Journal of Otolaryngology.* 2020. Т. 41, № 6. 102641 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2020.102641
5. Bakshi S.S. Nasalfurunculosis. *Visual Journal of Emergency Medicine*. 2021. Т. 25. 101185 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.visj.2021.101185
6. Sil A., Panigrahi A. Rudolph Sign in Nasal Vestibular Furunculosis. *Journal of Pediatrics.* 2022. № 241. P. 258–259. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2021.10.018
7. Narayanan V., Motlekar S., Kadhe G., Bhagat S. Efficacy and safety of nadifloxacin for bacterial skin infections: results from clinical and post-marketing studies. *Dermatology and Therapy.* 2014. Т. 4, № 2. P. 233–248. DOI: 10.1007/s13555-014-0062-1
8. Marra P., Colacurcio V., De Luca P., Bisogno A., Calvanese M., Scarpa A., et al. Nasal Vestibulitis and Vestibular Furunculosis: a systematic review about two common nasal infections and considerations about correct diagnosis and management. *La Clinica Terapeutica.* 2022. № 173, № 6. P. 590–596. DOI: https://doi.org/10.7417/CT.2022.2487
9. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». 2008. URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/990_005
10. Лаповець Л.Є., Акімова В.М., Лебедь Г.Б. Лабораторна імунологія: навчальний посібник. Магнолія. 2006. 318 с.

REFERENCES

1. Ibler KS, Kromann CB. Recurrent furunculosis – challenges and management: a review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology.* 2014;7:59–64. DOI: https://doi.org/10.2147/CCID.S35302
2. Shallcross LJ, Hayward AC, Johnson AM, Petersen I. Evidence for increasing severity of community-onset boils and abscesses in UK general practice. *Epidemiology and Infection.* 2015;143(11):2426–9. DOI: https://doi.org/10.1017/S0950268814003458
3. Sakr A, Brégeon F, Rolain JM, Blin O. Staphylococcus aureus nasal decolonization strategies: a review. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2019;17(5):327–40. DOI: https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1604220
4. Anzai T, Tsunoda A, Saikawa Y, et al. Cryosurgical ablation for treatment of common warts on the nasal vestibule. *American Journal of Otolaryngology.* 2020;41(6):102641. DOI: https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2020.102641
5. Bakshi SS. Nasalfurunculosis. *Visual Journal of Emergency Medicine.* 2021;25:101185. DOI: https://doi.org/10.1016/j.visj.2021.101185
6. Sil A, Panigrahi A. Rudolph Sign in Nasal Vestibular Furunculosis. *Journal of Pediatrics.* 2022;241:258–9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2021.10.018
7. Narayanan V, Motlekar S, Kadhe G, Bhagat S. Efficacy and safety of nadifloxacin for bacterial skin infections: results from clinical and post-marketing studies. *Dermatology and Therapy.* 2014;4(2):233–48. DOI: 10.1007/s13555-014-0062-1
8. Marra P, Colacurcio V, De Luca P, Bisogno A, Calvanese M, Scarpa A, et al. Nasal Vestibulitis and Vestibular Furunculosis: a systematic review about two common nasal infections and considerations about correct diagnosis and management. *La Clinica Terapeutica.* 2022;173(6):590–6. DOI: https://doi.org/10.7417/CT.2022.2487
9. Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical Principles of Medical Research Involving Human Subjects». 2008. (In Ukrainian). URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/990_005
10. Lapovets LE, Akimova VM, Lebed GB. Laboratory immunology: a textbook. Magnolia. 2006:318. (In Ukrainian).

Перспективи подальших досліджень

Присутність антибіотикорезистентних штамів у порожнині носа створює труднощі в лікуванні запального процесу і потребує нетрадиційного підходу в тактиці ведення таких хворих. Тому вивчення багатофакторності виникнення і розвитку інфекційних захворювань носа і прилеглих тканин є дуже актуальним та перспективним.

Prospects for further research

The presence of antibiotic-resistant strains in the nasal cavity creates difficulties in the treatment of the inflammatory process and requires an unconventional approach in the management of such patients. Therefore, the study of the multifactorial nature of the occurrence and development of infectious diseases of the nose and adjacent tissues is very relevant and promising.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного чи потенційного конфлікту інтересів щодо результатів даної роботи.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously certify the absence of actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the provided materials or who sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.
Робота виконана на кафедрі інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України та клінічній базі кафедри Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна лікарня № 30» в рамках науково-дослідної теми: «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування», номер державної реєстрації №0123U105022, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

Funding information

Financed by the state budget of Ukraine.
The work was performed at the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine and the clinical base of the department of the Communal Non-Commercial Enterprise of the Kharkiv City Council «City Clinical Hospital No. 30» within the framework of the research topic: «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process, that is caused by bacteria, viruses, viral-bacterial associations in the acute, prolonged and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics» state registration number 0123U105022, fundamental implementation period: 12023–12028, head – Head of the Department, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Попов Микола Миколайович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: mykola.m.popov@karazin.ua
моб.: +38 (067) 869-68-57
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Самусенко Дмитро Сергійович – аспірант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; лікар Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна лікарня No 30», вул. Гуданова 5/7, м. Харків, 61024
e-mail: samusenko1213@gmail.com
моб.: +38 (063) 499-21-20
Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Popov Mykola Mykolaiovych – Doctors of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: mykola.m.popov@karazin.ua
tel.: +38 (067) 869-68-57
Author's contribution: *research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Samusenko Dmytro Serhiyovych – Postgraduate student of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; doctor Communal non-commercial enterprise of the Kharkiv City Council «City Clinical Hospital No. 30», 5 Hudanova Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: samusenko1213@gmail.com
tel.: +38 (063) 499-21-20
Author's contribution: *formulating the purpose of the work, conducting experimental studies, analyzing the obtained data and their statistical processing.*

Огнівенко Олена Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: o.ognivenko@karazin.ua
моб.: +38 (057) 707-55-00
Внесок автора: *участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, остаточне затвердження статті.*

Ohnivenko Olena Volodymyrivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: ognivenko@karazin.ua
tel.: +38 (057) 707-55-00
Author's contribution: *participation in experimental research, writing the text of the article, final approval of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 27.08.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 13.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 192–201
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):192–201 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-08
УДК: 618.9..616.428

Стан місцевого та загального імунітету у дітей, які часто хворіють, із синдромом лімфаденопатії

Муратов Г.Р.[2], https://orcid.org/0000-0002-5865-3747, e-mail: muratov103@ukr.net
Савво О.М.[1], https://orcid.org/0000-0002-8584-3749, e-mail: o.savvo@karazin.ua
Волобуєва О.В.[1], https://orcid.org/0000-0002-5569-1748, e-mail: o.volobyeva@karazin.ua
Ржепішевська О.[3], https://orcid.org/0000-0002-7912-7447, e-mail: olena.rzhepishevska@umu.se

[1]Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Харківська обласна дитяча клінічна лікарня Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна
[3]Університет Умео, Умео, Швеція

Local and general immunity in children who often present with lymphadenopathy syndrome associated with respiratory infections

Muratov G.R.[2], https://orcid.org/0000-0002-5865-3747, e-mail: muratov103@ukr.net
Savvo O.M.[1], https://orcid.org/0000-0002-8584-3749, e-mail: o.savvo@karazin.ua
Volobuieva O.V.[1], https://orcid.org/0000-0002-5569-1748, e-mail: o.volobyeva@karazin.ua
Rzhepishevska O.[3], https://orcid.org/0000-0002-7912-7447, e-mail: olena.rzhepishevska@umu.se

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Kharkiv Regional Children's Clinical Hospital of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[3]Umea University, Umea, Sweden

Ключові слова:

Т-лімфоцити, В-лімфоцити, субпопуляції, імунітет, лімфаденопатія, діти.

Для кореспонденції:

Савво Олексій Миколайович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: o.savvo@karazin.ua

© Муратов Г.Р., Савво О.М., Волобуєва О.В., Ржепішевська О., 2024.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Вивчено особливості імунної системи дітей, які часто хворіють на гострі респіраторні інфекції, із синдромом лімфаденопатії (ЛАП).
Мета роботи – вивчити особливості імунних розладів у дітей, які часто хворіють, із синдромом лімфаденопатії.
Матеріали та методи. Імунологічне обстеження було проведено серед чотирьох груп дітей віком 9–16 років. Першу групу (основну) із 40 осіб склали діти, які часто (6–8 разів на рік) хворіли на гострі респіраторні інфекції (ГРІ), рецидивуючі бронхіти та мали синдром лімфаденопатії. До складу другої групи (група порівняння) увійшли 40 дітей, які також 6–8 разів на рік хворіли на гострі респіраторні інфекції, рецидивуючі бронхіти, але на відміну від дітей першої групи, не мали синдрому лімфаденопатії. Третю групу (групу порівняння) склали 40 дітей із гострими респіраторними інфекціями та гострим бронхітом, які не мали синдрому лімфаденопатії і не належали до дітей, які часто хворіють. До складу четвертої (контрольної групи) увійшли 30 здорових дітей того ж віку.
Результати та їх обговорення. Отримані дані свідчать, що гострі респіраторні інфекції у дітей 1-ї і 2-ї групи мають перебіг на тлі зниженого вмісту й активності основних гуморальних чинників місцевого імунітету: лізоциму, дефензимів та sIgA. Проте, у гострий період захворювання у дітей цих груп спостерігається незначне підвищення в секреті IgG у слині. Після одужання відновлення до нормальних значень лізоциму, дефензимів і sIgA не відбувається, їх рівень залишається достовірно нижчим ($p < 0,05$), ніж у здорових однолітків. У дітей 3-ї групи, навпаки, розвиток ГРІ супроводжується активізацією місцевих захисних факторів. У секреті спостерігається підвищення концентрації мономерного і димерного IgA, дефензимів і лізоциму. Після одужання значення цих факторів у дітей 3-ї групи відновлюється до фізіологічного рівня.
Висновки. У дітей, які часто хворіють на ГРІ із синдромом лімфаденопатії, спостерігається поєднання зниженої загальної імунореактивності організму з гіперактивністю окремих субпопуляцій лімфоцитів. Для дітей із ЛАП як у гострому періоді захворювання, так і після одужання характерним є підвищення вмісту в периферичній крові активованих Т- і В-лімфоцитів, що мають високий цитокінпродукуючий потенціал, а також збільшення поліклональної проліферативної активності лімфоцитів.

Для цитування:

Муратов Г.Р., Савво О.М., Волобуєва О.В., Ржепішевська О. Стан місцевого та загального імунітету у дітей, які часто хворіють із синдромом лімфаденопатії. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2 (14). С. 192–201. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-08

Key words:

T-lymphocytes, B-lymphocytes, subpopulations, immunity, lymphadenopathy, children.

For correspondence:

Savvo Oleksiy Mykolayovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: o.savvo@karazin.ua

© *Muratov G.R., Savvo O.M., Volobuieva O.V., Rzhepishevska O., 2024*

ABSTRACT

Background. The ethiology behind lymphadenopathy syndrome (LAP) in children who frequently present with acute respiratory infections is not fully understood.
Purpose – to study the characteristics of immune system in children who frequently present with lymphadenopathy syndrome.
Materials and methods. An immunological evaluation was conducted in four groups children aged 9–16 years. The first (main) group, (n=40), included those who frequently (6–8 times/year) presented with acute respiratory infections, recurrent bronchitis, and lymphadenopathy syndrome. The second group (comparison group (n=40)) those who also experienced acute respiratory infections and recurrent bronchitis 6–8 times/year but without, lymphadenopathy syndrome. The third group (comparison group (n=40)) presented with acute respiratory infections and acute bronchitis but did not have lymphadenopathy syndrome and were not categorized as frequently ill. The fourth (control (n=40)) group consisted of 30 healthy children of the same age. Local immunity was evaluated by measuring lysozyme, monomeric and dimeric IgA, IgG, and defensins concentration in saliva. Subpopulation composition of blood lymphocytes were studied by flow laser cytometry using specific monoclonal antibodies. The phagocytic activity of blood leukocytes was assessed using the thick drop method, based on their ability to ingest S. aureus.
Results. The obtained data indicate that acute respiratory infections in children of groups 1 and 2 occur against the background of reduced concentrations and activity of key humoral factors of local immunity: lysozyme, defensins, and sIgA. However, during the acute phase of the illness in these groups, a slight increase in IgG secretion in saliva was observed. After recovery, the levels of lysozyme, defensins, and sIgA did not return to normal, remaining significantly lower ($p<0.05$) compared to healthy subjects. In contrast, in group 3, the development of acute respiratory infections is accompanied by the activation of local protective factors. An increase in the concentration of monomeric and dimeric IgA, defensins, and lysozyme is observed in the secretion. After recovery, the levels of these factors in children of group 3 return to physiological norms.
Conclusions. Children who frequently suffer from acute respiratory infections with lymphadenopathy syndrome exhibit a combination of reduced overall immunoreactivity of the body and hyperactivity of certain lymphocyte subpopulations. For children with lymphadenopathy syndrome, both during the acute phase of the disease and after recovery, an increase in the levels of activated T- and B-lymphocytes with high cytokine-producing potential, as well as an increase in the polyclonal proliferative activity of lymphocytes, is characteristic.

For citation:

Muratov GR, Savvo OM, Volobuieva OV, Rzhepishevska O. Local and general immunity in children who often present with lymphadenopathy syndrome associated with respiratory infections. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):192–201. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-08

ВСТУП

Гострі респіраторні інфекції (ГРІ) є найбільш поширеними захворюваннями дитячого віку. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я за 2024 р. частота ГРІ у дітей віком до 5 років у всьому світі становить у середньому від 4 до 9 епізодів на рік. Навіть у неепідемічні роки кількість ГРІ в кілька разів перевищує сумарну захворюваність на інші патології: близько 60% звернень до педіатрів по медичну допомогу пов язано з ГРІ. Крім великої поширеності медико-соціальна значущість ГРІ визначається тяжкими ускладненнями, які нерідко призводять до летального результату [1, 2].

Останніми роками спостерігається зростання частоти ГРІ та ЛОР-захворювань, асоційованих

INTRODUCTION

Acute respiratory infections (ARI) are the most common diseases in childhood. According to the World Health Organization data for 2024, the frequency of ARIs in children under 5 years of age worldwide averages from 4 to 9 episodes per year. Even in non-epidemic years, the number of ARIs is several times higher than the total incidence of other pathologies: approximately 60% of visits to pediatricians for medical help are related to ARIs. In addition to their high prevalence, the medical and social significance of ARIs is determined by severe complications, which often lead to fatal outcomes [1, 2].

In recent years, there has been an increase in the frequency of ARIs and ENT (ear, nose, and throat)

зі збільшенням лімфатичних вузлів, які класифікуються як реактивні лімфаденопатії (ЛАП). Найчастіше спостерігається взаємозв язок розвитку ЛАП із перенесеною вірусною інфекцією. На сьогодні імунопатогенетичні аспекти ЛАП вивчені недостатньо, а діагностика етіологічних факторів ЛАП пов'язана зі значними труднощами. Зокрема, реактивні ЛАП вимагають диференціювання з іншими станами, пов'язаними зі збільшенням лімфатичних вузлів, такими як туберкульоз, лімфогранулематоз [3–6].

Мета роботи – вивчити особливості імунних розладів у дітей, які часто хворіють із синдромом лімфаденопатії.

diseases associated with enlarged lymph nodes, classified as reactive lymphadenopathies (LAP). Most often, there is a correlation between the development of LAP and a viral infection. To date, the immunopathogenetic aspects of LAP have been insufficiently studied, and the diagnosis of etiological factors of LAP is associated with significant difficulties. In particular, reactive LAP requires differentiation from other conditions associated with enlarged lymph nodes, such as tuberculosis and Hodgkin s lymphoma [3–6].

Objective – the aim of our study is to investigate the characteristics of immune disorders in children who frequently fall ill and have a lymphadenopathy syndrome.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України. Дизайн роботи погоджено з Комісією з питань біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна із висновком про відповідність до вимог морально-етичних норм біоетики згідно з правилами ICH|GCP, Гельсінської декларацій прав людини (1964), Конвенцій Ради Європи по правах людини і біомедицини (1997), а також чинним законодавством України [7].

Імунологічно обстежено чотири групи дітей віком 9–16 років. Першу групу (основну) із 40 осіб склали діти, які часто (6–8 разів на рік) хворіли на гострі респіраторні інфекції, рецидивуючі бронхіти та мали синдром лімфаденопатії. До складу другої групи (група порівняння) увійшли 40 дітей, які також 6–8 разів на рік хворіли на гострі респіраторні інфекції, рецидивуючі бронхіти, але на відміну від дітей першої групи, не мали синдрому лімфаденопатії. Третю групу (групу порівняння) склали 40 дітей із гострими респіраторними інфекціями та гострим бронхітом, які не мали синдрому лімфаденопатії і не належали до дітей, які часто хворіють. До складу четвертої (контрольної) групи увійшли 30 здорових дітей того ж віку. Для зазначених вище груп оцінювали стан місцевого та системного імунітету.

Стан місцевого імунітету оцінювали за вмістом у слині лізоциму, мономерного і димерного IgA, IgG, дефензимів. Слина за вмістом імуноглобулінів схожа із секретом гортані, і її фактори адекватно відображають імунітет слизових покривів [8].

Стан системного імунітету оцінювали за популяційним і субпопуляційним складом лімфоцитів периферичної крові, функціональною активністю клітин у РБТЛ, фагоцитарною здатністю лейкоцитів крові, вмістом у сироватці крові основних класів імуноглобулінів і комплементу. Дослідження проводили в гострому періоді захворювання і через місяць після одужання [9].

Вміст лізоциму в слині визначали методом дифузії в агарі [9], імуноглобулінів у сироватці та слині – спектрометрично [9–12]. Катіонні білки (HNP, а-дефензими) визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою реактивів фірми Bender Medsystems (Австрія). Популяційний і субпопуляційний склад лімфоцитів крові вивчали за допомогою проточної лазерної цитометрії з використанням відпо-

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at the clinical base of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine. The design of the study was approved by the Bioethics Committee of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, with a conclusion on compliance with the moral and ethical norms of bioethics according to the ICH|GCP rules, the Helsinki Declaration of Human Rights (1964), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (1997), and the current legislation of Ukraine [7].

Immunological examination was conducted on four groups of children aged 9–16 years. The first group (main group) consisted of 40 children who frequently (6–8 times a year) suffered from acute respiratory infections, recurrent bronchitis, and had a lymphadenopathy syndrome. The second group (comparison group) consisted of 40 children who also suffered from acute respiratory infections and recurrent bronchitis 6-8 times a year but did not have a lymphadenopathy syndrome, unlike the first group. The third group (comparison group) included 40 children with acute respiratory infections and acute bronchitis who did not have a lymphadenopathy syndrome and were not frequent sufferers. The fourth (control) group consisted of 30 healthy children of the same age. For the above-mentioned groups, the state of local and systemic immunity was evaluated.

The state of local immunity was assessed by the content of lysozyme, monomeric and dimeric IgA, IgG, and defensins in saliva. Saliva, in terms of immunoglobulin content, is similar to the secret of the throat and its factors adequately reflect the immunity of mucous membranes [8].

The state of systemic immunity was evaluated by the population and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes, functional activity of cells in the LTT, phagocytic capacity of blood leukocytes, and the content of the main classes of immunoglobulins and complement in blood serum. The studies were conducted during the acute phase of the disease and one month after recovery [9].

The content of lysozyme in saliva was determined by the agar diffusion method [9], and immunoglobulins in serum and saliva were determined spectrometrically [9–12]. Cationic proteins (HNP, α-defensins) were determined by ELISA using reagents from Bender

відної МАТ, на апараті FACS-Calibur (США). Усі стадії підготовки проб до цитометрії проводили у відповідності до протоколів виробника. Вміст Th1 і Th2 клітин у крові визначали за наявністю вмісту в цитоплазмі лімфоцитів IL-4 і INFγ [9]. Спонтанну та ФГА-індуковану проліферативну активність лімфоцитів вивчали в культурі клітин *in vitro* (РБТ) [10, 13]. Інтенсивність проліферації клітин оцінювали морфологічно за відсотком сформованих бластних форм лімфоцитів.

Фагоцитарну активність лейкоцитів крові оцінювали методом товстої краплі за здатністю клітин поглинати S.aureus (штам 209). Визначали фагоцитарне число (ФЧ – число клітин, що фагоцитують) і фагоцитарний індекс (ФІ – кількість бактерій, поглинених однією клітиною).

Ефективність внутрішньоклітинного кілінгу (біоцидність лейкоцитів) оцінювали за методом S. Nielsen [12]. Кількість поглинених, але живих бактерій, визначали після висіву лізату клітин за методом Гольда на чашки Петрі з м'ясопептонним агаром. Лізис лейкоцитів проводили шляхом додавання триразового об'єму води.

Активність комплементу в сироватці крові оцінювали за 50%-вим гемолізом тест-системи [14].

Отримані дані статистично обробляли. Для цієї мети використовували стандартний пакет прикладних програм Statgraphics. Для виявлення значущих відмінностей порівнюваних показників використовували t-критерій Стьюдента. Відмінності вважали достовірними за рівня значущості $p < 0,05$. Показники в таблицях наведено у вигляді $M \pm \delta$, де M – середнє арифметичне значення, а δ – середньоквадратичне відхилення.

Medsystems (Austria). The population and subpopulation composition of blood lymphocytes was studied using flow cytometry with the appropriate monoclonal antibodies on a FACS-Calibur (USA) device. All stages of sample preparation for cytometry were carried out according to the manufacturer s protocols. The content of Th1 and Th2 cells in the blood was determined by the presence of IL-4 and IFNγ in the cytoplasm of lymphocytes [9]. The spontaneous and PHA-induced proliferative activity of lymphocytes was studied in vitro cell culture (LTT) [10, 13]. The intensity of cell proliferation was assessed morphologically by the percentage of blast forms of lymphocytes.

The phagocytic activity of blood leukocytes was evaluated by the thick drop method based on the ability of cells to phagocytize S. aureus (strain 209). The phagocytic number (PN – the number of cells that phagocytize) and the phagocytic index (PI – the number of bacteria phagocytized by one cell) were determined.

The efficiency of intracellular killing (leukocyte biocidal activity) was evaluated by the S. Nielsen method [12]. The number of ingested but live bacteria was determined by plating the cell lysate on meat-peptone agar Petri dishes using the Gold method. Lysis of leukocytes was performed by adding three times the volume of water.

The activity of complement in blood serum was evaluated by 50% hemolysis of the test system [14].

The obtained data were subjected to statistical processing. For this purpose, the standard package of applied programs Statgraphics was used. To identify significant differences in the compared indicators, the Student's t-test was used. Differences were considered significant at a significance level of $p < 0.05$. Indicators in the tables are presented as $M \pm \delta$, where M is the arithmetic mean and δ is the standard deviation.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані дані свідчать, що гострі респіраторні інфекції у дітей 1-ї і 2-ї групи мають перебіг на тлі зниженого вмісту й активності основних гуморальних чинників місцевого імунітету: лізоциму, дефензимів та sIgA. Проте, у гострий період захворювання у дітей цих груп спостерігається незначне підвищення в секреті IgG. Після одужання відновлення до нормальних значень лізоциму, дефензимів і sIgA не відбувається, їхній рівень залишається достовірно нижчим ($p < 0,05$), ніж у здорових однолітків. У дітей 3-ї групи, навпаки, розвиток ГРІ супроводжується активізацією місцевих захисних факторів. У секреті спостерігається підвищення концентрації мономерного і димерного IgA, дефензимів і лізоциму. Після одужання значення цих факторів у дітей 3-ї групи повертаються до фізіологічного рівня (табл. 1).

У сироватці крові дітей 1-ї і 2-ї груп у гострому періоді захворювання спостерігається деяке підвищення концентрації IgM та IgG на тлі низького вмісту IgA. На відміну від цього, у дітей 3-ї групи гострий період захворювання характеризується підйомом вмісту як IgM, так і IgA. Після одужання у дітей 1-ї і 2-ї груп концентрації IgM, а також IgG повертаються до норми, а рівень IgA залишається значно нижчим за норму. У дітей 3-ї групи процес одужання супроводжується нормалізацією кон-

RESULTS AND DISCUSSION

The obtained data indicate that acute respiratory infections in children of groups 1 and 2 occur against the background of reduced levels and activity of key humoral factors of local immunity: lysozyme, defensins, and sIgA. However, during the acute phase of the disease, a slight increase in IgG secretion is observed in these groups. After recovery, the levels of lysozyme, defensins, and sIgA do not return to normal values, remaining significantly lower ($p<0.05$) compared to their healthy peers.

In contrast, in children of group 3, the development of acute respiratory infections is accompanied by the activation of local defense factors. An increase in the concentration of monomeric and dimeric IgA, defensins, and lysozyme is observed in the secretions. After recovery, the levels of these factors in children of group 3 return to physiological norms (Table 1).

The analysis of the dynamics of blood serum markers in children of groups 1 and 2 during the acute phase of the disease revealed a slight increase in the concentration of IgM and IgG against a background of low IgA levels. In contrast, the acute phase of the disease in children from group 3 is characterized by an increase in the content of both IgM and IgA. After recovery, in children from groups 1 and 2, the concentrations of IgM and IgG return to normal, while the level

центрації всіх класів імуноглобулінів. Важливо відзначити, що в сироватці крові дітей усіх трьох груп характерним є незначний підйом рівня комплементу в гострий період захворювання (табл. 2).

of IgA remains significantly lower than normal. In children from group 3, the recovery process is accompanied by the normalization of the concentration of all classes of immunoglobulins. It is important to note that in the serum of children from all three groups, there is a slight increase in complement levels during the acute phase of the disease (Table 2).

Таблиця 1. Вміст лізоциму, дефензимів, sIgA, m IgA, IgG у ротоглотковому секреті дітей основної групи (1) і груп порівняння (2, 3) у гострому періоді захворювання та після одужання
Table 1. Content of lysozyme, defensins, sIgA, IgA, and IgG in the oropharyngeal secretions of children in the main group (1) and comparison groups (2, 3) during the acute phase of the disease and after recovery

Показник / Indicator	Група дітей / Group of children			
	1	2	3	Контрольна / Control
sIgA, г/л	0,18±0,02* 0,14±0,02*	0,18±0,02* 0,16±0,02	0,51±0,04* 0,26±0,02	0,26±0,02
mIgA, г/л	0,16±0,02 0,14±0,01	0,16±0,02 0,14±0,02	0,23±0,02* 0,17±0,02	0,17±0,02
IgG, г/л	0,094±0,009* 0,079±0,009	0,093±0,009* 0,081±0,009	0,098±0,009* 0,071±0,009	0,071±0,009
Лізоцим, мг/мл Lysozyme, mg/ml	18,6±1,5* 16,7±1,4*	19,96±1,6* 17,3±1,6*	29,7±2,3 26,5±1,8	26,4±1,8
Дефензими, пг/мл Defenzymes, pg/ml	45,6±4,1* 59,7±5,7*	56,4±5,4* 63,9±6,1*	89,3±8,5 78,2±7,5	77,1±7,2

Примітки:
над рискою наведено показники в гострому періоді захворювання, під рискою – показники після одужання;
*p < 0,05 – порівняно з показниками контрольної групи.

Notes:
above the line are the indicators during the acute phase of the disease, below the line are the indicators after recovery;
*p < 0.05 – compared to the control group.

Таблиця 2. Вміст основних класів імуноглобулінів і комплементу в сироватці крові дітей основної групи (1) і груп порівняння (2, 3) у гострому періоді захворювання та після одужання
Table 2. Content of the main classes of immunoglobulins and complement in the serum of children in the main group (1) and comparison groups (2, 3) during the acute phase of the disease and after recovery

Показник / Indicator	Група дітей / Group of children			
	1	2	3	Контрольна / Control
IgA, г/л	0,95±0,04*,* 0,91±0,04*,**	0,97±0,04*,** 0,91±0,04*,**	1,81±0,20* 1,36±0,15	1,37±0,15
IgM, г/л	1,22±0,11*,** 0,98±0,09	1,25±0,12*,** 0,97±0,09	1,63±0,15* 0,95±0,08	0,94±0,08
IgG, г/л	12,57±0,61*,** 10,11±0,56	12,61±0,61*,** 10,12±0,56	10,92±0,56 10,20±0,52	10,19±0,53
Комплемент / Complement, CH50	66,21±6,81 61,34±4,73	64,93±6,84 61,83±4,83	62,91±6,85 61,54±4,53	61,51±4,51

Примітки:
над рискою наведено показники в гострому періоді захворювання, під рискою – показники після одужання;
* p < 0,05 – порівняно з показниками контрольної групи;
** p < 0,05 – між показниками для 1-ї, 2-ї і 3-ї групи.

Notes:
above the line are the indicators during the acute phase of the disease, below the line are the indicators after recovery;
* p < 0.05 – compared to the control group;
** p<0.05 – between indicators for groups 1, 2, and 3.

Результати популяційного і субпопуляційного складу лімфоцитів Т – ($CD3^+$) і Т-($CD4^+$) периферичної крові показує, що гострий період захворювання у дітей 1-ї і 2-ї груп має перебіг на тлі зниження частки Т-($CD3^+$)-клітин і Т- ($CD4^+$)-клітин, підвищення кількості В-лімфоцитів ($CD19^+$)-клітин, Т- і В-клітин, що несуть маркери ранньої активації CD69, та активаційний маркер CD71. Достовірних змін у вмісті $CD8^+$- і $CD16^+$-клітин у дітей цих груп не спостерігали. Однак у популяції $CD8^+$-клітин відзначалося дворазове

The results of the analysis of the population and subpopulation composition of T-($CD3^+$) and T-($CD4^+$) lymphocytes in peripheral blood showed that the acute phase of the disease in children of groups 1 and 2 occurs against a background of decreased proportions of T-($CD3^+$) and T-($CD4^+$) cells, an increase in the number of B lymphocytes ($CD19^+$) cells, and T- and B-cells expressing early activation markers CD69 and the activation marker CD71. No significant changes were observed in the content of $CD8^+$ and $CD16^+$ cells in children of these groups.

збільшення кількості клітин із фенотипом $CD8^+$ $CD11b^+$, супресорними властивостями, а також інверсія у співвідношенні супресорів ($CD8^+$ $CD11b^+$) і цитотоксичних клітин ($CD8^+$ $CD11b^-$) у бік переважання клітин із супресорною активністю.

Виявлено, що у 67,5% дітей 1-ї групи і 62,5% дітей 2-ї групи, спостерігається відносне збільшення частки Th1-клітин (1-ша група – 15,8 ± 0,9%, 2-га група – 14,1 ± 0,9%, 4-та група – 9,4 ± 0,6%). Збільшення вмісту Th2-клітин спостерігалося у 25,0% дітей 1-ї групи і 20,0% дітей 2-ї групи (1-ша група – 32,9 ± 2,2%, 2-га – 33,0 ± 2,1%, 4-та – 27,1 ± 1,6%). (табл. 3).

However, in the $CD8^+$ population, a twofold increase in the number of cells with the $CD8^+CD11b^+$ phenotype with suppressive properties was noted, as well as an inversion in the ratio of suppressor cells ($CD8^+CD11b^+$) to cytotoxic cells ($CD8^+CD11b^-$) in favor of cells with suppressive activity.

It was found that 67.5% of children in group 1 and 62.5% of children in group 2 showed a relative increase in the proportion of Th1 cells (group 1 – 15.8±0.9%, group 2 – 14.1±0.9%, group 4 – 9.4±0.6%). An increase in the proportion of Th2 cells was observed in 25.0% of children in group 1 and 20.0% of children in group 2 (group 1 – 32.9±2.2%, group 2 – 33.0±2.1%, group 4 – 27.1±1.6%) (Table 3).

Таблиця 3. Популяційний і субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові дітей основної групи (1) і груп порівняння (2, 3) у гострому періоді захворювання та після одужання
Table 3. Population and subpopulation composition of lymphocytes in the peripheral blood of children in the main group (1) and comparison groups (2, 3) during the acute phase of the disease and after recovery

Показник / Indicators	Група дітей / Group of children			
	1	2	3	Контрольна / Control
Лейкоцити / Leukocytes, 10^9/л	9,62±2,03* 6,20±0,61	9,31±1,81* 6,30±0,61	10,62±2,04* 1,36±0,15	61,31±0,52
Лімфоцити / Lymphocytes, %	33,61±3,16 35,90±3,40	33,82±3,18 36,15±3,14	36,61±3,48 36,24±3,56	36,26±3,36
Лімфоцити / Lymphocytes, 10^9/л	3,23±0,33 2,22±0,23	3,14±0,32 2,27±0,23	3,88±0,39 2,22±0,21	2,22±0,21
CD3+-кл, %	52,3±3,1* 58,1±3,0*	55,4±3,1* 59,0±3,1*	68,9±3,1 64,7±2,0	64,8±2,0
CD4+-кл, %	30,1±2,7* 31,0±21,6*	32,3±2,6* 32,9±2,6*	39,8±3,16 37,5±1,6	37,5±1,6
CD8+-кл, %	21,8±1,3 20,1±1,3	21,6±1,3 20,0±1,3	21,0±1,3 20,3±1,2	20,3±1,2
CD19+-кл, %	24,6±2,2* 21,8±2,0	21,9±2,0 18,8±1,9	21,8±2,0 18,3±2,1	18,3±1,6
CD16+-кл, %	13,2±0,8 12,9±0,8	13,1±0,8 12,9±0,8	13,1±0,8 12,8±0,8	12,8±0,8
CD3+CD69+-кл, %	10,4±0,6*,** 8,0±0,5*,**	5,8±0,4* 4,6±0,3	5,2±0,4* 4,1±0,3	4,1±0,3
CD19+ CD69+-кл, %	7,3±0,5*,** 6,5±0,4*,**	5,1±0,3* 3,8±0,3	4,9±0,3* 3,6±0,2	3,6±0,2
CD8+ CD11b--кл, %	8,3±0,4*,** 8,0±0,4	11,1±0,6 8,0±0,4	13,6±0,7 7,9±0,4	12,9±0,6
CD8+ CD11b+-кл, %	13,0±0,7*,** 8,1±0,4*	9,3±0,6* 7,4±0,4*	6,8±0,3 5,4±0,3	6,4±0,3
CD8+ CD11b-/CD8+ CD11b+-кл	0,71±0,04*,** 0,98±0,05*	0,87±0,05* 1,08±0,06*	1,4±0,08 1,4±0,08	1,4±0,08
CD71+-кл, %	11,9±0,7*,** 7,8±0,6*,**	6,7±0,5* 4,8±0,4	4,8±0,4 4,3±0,3	4,3±0,3
Спонтанна РБТЛ Spontaneous RBTL, %	22,6±2,0*,** 15,6±1,4*,**	18,0±1,5* 8,8±0,9	9,3±0,7* 7,5±0,5	7,5±0,5
ФГА індукований РБТЛ FGA inductions of RBTL, %	39,9±4,0* 54,8±5,6	43,0±4,1* 56,1±5,7	64,1±3,9 63,4±3,1	63,3±3,1

Примітки:
над рискою наведено показники в гострому періоді захворювання, під рискою – показники після одужання;
* p < 0,05 – між показниками дітей із гострими респіраторними захворюваннями та контрольної групи;
** p < 0,05 між показниками дітей 1-ї і 2-ї групи.

Note:
above the line are the indicators during the acute phase of the disease, below the line are the indicators after recovery;
** p < 0.05 – between the indicators of children with acute respiratory infections and the control group;
** p < 0.05 – between the indicators of children in groups 1 and 2.

Звертає увагу, що спостережувані зміни в субпопуляційному складі лімфоцитів і активності окремих категорій клітин у дітей 1-ї і 2-ї груп мають перебіг на тлі зниженої загальної імунореактивності організму (табл. 2–4).

Після одужання у дітей 1-ї і 2-ї груп вміст $CD3^+$ і $CD4^+$-лімфоцитів залишався зниженим поряд із підвищеною кількістю клітин із супресорними властивостями $CD8^+$ $CD11b^+$. У дітей 1-ї групи, на відміну від дітей 2-ї групи, у цей період також відзначалося збільшення частки лімфоцитів, що експресують CD71.

У гострому періоді захворювання лімфоцити пацієнтів 1-ї і 2-ї груп виявляли підвищення спонтанної проліферативної активності та зниження рівня відповіді на ФГА – мітоген у РБТЛ. Після одужання тільки у дітей 1-ї групи відзначалася достовірно підвищена спонтанна проліферація лімфоцитів. У 2-ї групи одужавших дітей, на відміну від 1-ї групи дітей, ФГА-індукована бласттрансформувальна активність клітин нормалізувалася, а в 1-й групі дітей залишалася нижче значень норми (табл. 3).

У дітей 3-ї групи ГРІ мали перебіг на іншому імунному тлі. На відміну від дітей 1 і 2 груп, у цій групі гострий період захворювання характеризувався підйомом абсолютного й відносного вмісту в периферичній крові $CD3^+$- і $CD4^+$-клітин, а також відсутністю зростання кількості клітин із супресивними властивостями ($CD8^+$ $CD11b^+$), а також клітин, які активно проліферували $CD71^+$. Лімфоцити крові в РБТ виявляли високу відповідну здатність на ФГА і помірну спонтанну проліферативну активність. При цьому у дітей 3-ї групи, як і у дітей 1-ї і 2-ї груп, спостерігалося збільшення кількості Т-лімфоцитів ($CD3^+$-клітин) і В-лімфоцитів ($CD19^+$-клітин) і не відбувалося істотних змін у вмісті $CD8^+$- і $CD16^+$-клітин. У 70% дітей спостерігалося збільшення частки Th1-клітин (14,1 ± 0,9%, норма – 9,4 ± 0,6%) і у 20% дітей – збільшення частки Th2-клітин (33,5 ± 2,1%, норма – 27,1 ± 1,6%). Після одужання у всіх дітей 3-ї групи імунні показники поверталися до норми.

Вивчення фагоцитарної та біоцидної активності лейкоцитів крові засвідчило, що у дітей 1-ї і 2-ї групи ці властивості клітин знижені як у гострому періоді захворювання, так і після одужання, тоді як у дітей 3-ї групи вони достовірно не відрізняються від контрольних показників (табл. 4).

It is noteworthy that the observed changes in the subpopulation composition of lymphocytes and the activity of specific cell categories in children from groups 1 and 2 occur against a background of reduced overall immune reactivity of the body (Tables 2–4).

After recovery, children in groups 1 and 2 showed a continued reduction in $CD3^+$ and $CD4^+$ lymphocytes, along with an increased number of cells with suppressive properties ($CD8^+CD11b^+$). In group 1 children, unlike group 2, there was also an increase in the proportion of lymphocytes expressing CD71.

In the acute phase of the disease, lymphocytes of patients in groups 1 and 2 showed increased spontaneous proliferative activity and decreased response to FGA mitogen in RBT. After recovery, only in group 1 children was there a significantly higher spontaneous proliferation of lymphocytes. In group 2 children, unlike in group 1, the FGA-induced blast-transforming activity of cells normalized, while in group 1, it remained below normal values (Table 3).

In group 3 children, ARIs occurred against a different immune background. Unlike children in groups 1 and 2, the acute phase of the disease in this group was characterized by an increase in both absolute and relative levels of $CD3^+$ and $CD4^+$ cells in peripheral blood, and there was no increase in the number of cells with suppressive properties ($CD8^+CD11b^+$) or cells actively proliferating ($CD71^+$). Blood lymphocytes in RBT showed high responsiveness to FGA and moderate spontaneous proliferative activity. Additionally, in group 3 children, as in groups 1 and 2, an increase in the number of T lymphocytes ($CD3^+$ cells) and B lymphocytes ($CD19^+$ cells) was observed, with no significant changes in $CD8^+$ and $CD16^+$ cells. In 70% of children, an increase in the proportion of Th1 cells was observed (14.1±0.9%, normal value – 9.4±0.6%), and in 20% of children, an increase in the proportion of Th2 cells (33.5±2.1%, normal value – 27.1±1.6%). After recovery, all immune indicators in group 3 children returned to normal.

The study of phagocytic and biocidal activity of blood leukocytes showed that in children of groups 1 and 2, these cell properties were reduced both in the acute phase of the disease and after recovery, while in group 3 children, they did not differ significantly from the control group values (Table 4).

Таблиця 4. Показники фагоцитарної активності лейкоцитів крові у дітей основної групи (1) і груп порівняння (2, 3) у гострому періоді захворювання та після одужання
Table 4. Indicators of phagocytic activity of blood leukocytes in children in the main group (1) and comparison groups (2, 3) during the acute phase of the disease and after recovery

Показник / Indicator	Група дітей / Group of children			
	1	1	2	Контрольна / Control
ФЧ / FC, %	43,5±2,15* 55,8±2,36*	44,9±2,18* 57,9±2,39	70,3±2,42 68,2±2,41	68,2±2,41
ФІ / FI	3,0±0,31* 4,7±0,32	3,2±0,31* 5,0±0,32*	7,3±0,36* 6,5±0,08	0,94±0,08
Біоцидність (% бактерій, що вижили після фагоцитозу) Biocidity (% of bacteria surviving after phagocytosis)	17,3±1,62* 6,8±0,61*	17,3±1,63* 6,6±0,62	6,0±0,68 4,8±0,61	4,8±0,61

Примітки:
над рискою наведено показники в гострому періоді захворювання, під рискою – показники після одужання;
* $p < 0,05$ – між показниками дітей із гострими респіраторними захворюваннями та контрольної групи.

Notes:
above the line are the indicators during the acute phase of the disease, below the line are the indicators after recovery;
* $p < 0.05$ – between the indicators of children with acute respiratory infections and the control group.

Отримані дані свідчать про те, що у дітей, які часто хворіють, спостерігається зниження факторів як місцевого, так і системного імунітету, що, ймовірно, і створює сприятливі умови для розвитку інфекції та її персистенції. Через це гострі захворювання набувають рецидивуючого або хронічного перебігу, що і є підґрунтям для розвитку різноманітних ускладнень.

The obtained data suggest that in children who frequently present with respiratory infections, there is a decrease in both local and systemic immune factors, which likely creates favorable conditions for the development and persistence of infection. As a result, acute respiratory diseases become recurrent or chronic, which is the basis for the development of various complications.

ВИСНОВКИ

У дітей, які часто хворіють на ГРІ із синдромом лімфаденопатії, спостерігається поєднання зниженої загальної імунореактивності організму з гіперактивністю окремих субпопуляцій лімфоцитів.

Для дітей із ЛАП як у гострому періоді захворювання, так і після одужання, характерним є підвищення вмісту в периферичній крові активованих Т- і В-лімфоцитів, що мають високий цитокінпродукуючий потенціал, а також збільшення поліклональної проліферативної активності лімфоцитів.

CONCLUSIONS

In children who frequently suffer from ARI with lymphadenopathy syndrome, there is a combination of reduced overall immune reactivity with hyperactivity of certain lymphocyte subpopulations.

For children with LAPS, both during the acute phase of the disease and after recovery, it is characteristic to observe an increase in the content of activated T- and B-lymphocytes in peripheral blood, which have a high cytokine-producing potential, as well as an increase in polyclonal proliferative activity of lymphocytes.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Kansen H.M., Lebbink M.A., Mul J., Erp F.C., Engelen M., Vries E., et al. Risk factors for atopic diseases and recurrent respiratory tract infections in children. *Pediatric Pulmonology.* 2020. № 11(55). P. 3168–3179. DOI: https://doi.org/10.1002/ppul.25042
2. Марушко Ю., Марушко Т., Дмитришин О., Бовкун О., Іовіца Т., Дмитришин Б. Особливості стану здоров'я дітей після перенесених гострих респіраторних вірусних інфекцій: погляд на проблему, шляхи вирішення. *Здоров'я дитини*. 2024. № 19(6). С. 397–406. DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.19.6.2024.1745
3. Антипкін Ю.Г., Волосовець О.П., Майданник В.Г., Березенко В.С., Моісеєнко Р.О., Виговська О.В., та ін. Стан здоров'я дитячого населення – майбутнє країни (частина 2). *Здоров'я дитини*. 2018. № 13(2). С. 142–152. DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.13.2.2018.129546
4. Torretta S., Rosazza C., Baselli L., Berti C., Bosi P., Dellepiane R.M., et al. Immunological profiles of children with recurrent otitis media with or without spontaneous tympanic membrane perforation and of children with recurrent respiratory infections. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2022. № 160. 111219 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2022.111219
5. Marushko Yu., Hyshchak T., Dmytryshyn O., Dmytryshyn B., Myka M. Magnesium's role in a healthy person's body, in the course and rehabilitation after infectious respiratory pathology and COVID-19 (literature information, own data). *Modern Pediatrics*. 2023. № 133. P. 90–96. DOI: https://doi.org/10.15574/sp.2023.133.90
6. Heidari M., Maleki Vareki S., Yaghobi R., Karimi M.H. Microbiota activation and regulation of adaptive immunity. *Frontiers in immunology.* 2024. № 15. 429436 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1429436
7. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». 2008. URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/990_005
8. Лаповець Л.Є., Акімова В.М., Лебедь Г.Б. Лабораторна імунологія: навчальний посібник. Магнолія 2006. 2021. 318 с. URL: https://magnolia.lviv.ua/wp-content/uploads/2023/10/Laboratorna-imunolohiia-Zmist.pdf
9. Гаркава К.Г., Дражнікова А.В. Основи імунології: лабораторний практикум. Київ: НАУ, 2015. 60 с. URL: https://er.nau.edu.ua/bitstream/NAU/40434/2/OsnovuImynologii.pdf
10. Попов М.М. Основи загальної імунології: підручник. Харків: Видавництво «Форт». 2018. 290 с. URL: https://old.karazin.ua/docs/med-1.pdf
11. Чернишова Л.І., Волоха А.П., Костюченко Л.В., та ін. Дитяча імунологія: підручник (ВНЗ IV р. а.), «Медицина» 2013. 720 с. URL: https://www.medpublish.com.ua/ditjacha-imunologija-pidruchnik-vnz-v-r-a-l-chernishova-ap-voloha-lv-kostjuchenko-ta-in-za-red-l-chernishovoyi-ap-volohi/p-542.html?srsltid=AfmBOoqpRXbbuC99iB-BrhXoqOIc1OnlrZlzOoE4gZpM7SCDEZAbR3smK
12. Nielsen S.L., Blak F.T., Storgaard V., Obel N. Evalution of a method for measurement of intracellular killing of Staphylococcus aureus in human neutrophilic granulocyte. *Armis*. 1995. № 103. P. 460–468. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1995.tb01132.x

REFERENCES

1. Kansen HM, Lebbink MA, Mul J, Erp FC, Engelen M, Vries E, et al. Risk factors for atopic diseases and recurrent respiratory tract infections in children. *Pediatric Pulmonology.* 2020;11(55):3168–79. DOI: https://doi.org/10.1002/ppul.25042
2. Marushko Y, Marushko T, Dmytryshyn O, Bovkun O, Iovitsa T, Dmytryshyn B. Peculiarities of the health status of children after acute respiratory viral infections: a view on the problem, ways to solve it. *Child Health.* 2024;19(6):397–406. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.19.6.2024.1745
3. Antipkin YuG, Volosovets OP, Maidannyk VG, Berezenko VS, Moiseenko RO, Vygovska OV, et al. The state of health of the child population is the future of the country (part 2). *Child health*. 2018;13(2):142–52. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.13.2.2018.129546
4. Torretta S, Rosazza C, Baselli L, Berti C, Bosi P, Dellepiane RM, et al. Immunological profiles of children with recurrent otitis media with or without spontaneous tympanic membrane perforation and of children with recurrent respiratory infections. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.* 2022;160:111219. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2022.111219
5. Marushko Yu, Hyshchak T, Dmytryshyn O, Dmytryshyn B, Myka M. Magnesium's role in a healthy person's body, in the course and rehabilitation after infectious respiratory pathology and COVID-19 (literature information, own data). *Modern Pediatrics*. 2023;133:90–6. DOI: https://doi.org/10.15574/sp.2023.133.90
6. Heidari M, Maleki Vareki S, Yaghobi R, Karimi MH. Microbiota activation and regulation of adaptive immunity. *Frontiers in immunology.* 2024;15:429436. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1429436
7. Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical Principles of Medical Research Involving Human Subjects». 2008. (In Ukrainian). URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/990_005
8. Lapovets LE, Akimova VM, Lebed GB. Laboratory immunology: a textbook. Magnolia 2006. 2021:318. (In Ukrainian). URL: https://magnolia.lviv.ua/wp-content/uploads/2023/10/Laboratorna-imunolohiia-Zmist.pdf
9. Garkava KG, Drazhnikova AV. Fundamentals of Immunology: Laboratory Practical Course. Kyiv: NAU, 2015:60. (In Ukrainian). URL: https://er.nau.edu.ua/bitstream/NAU/40434/2/OsnovuImynologii.pdf
10. Popov MM. Fundamentals of General Immunology: Textbook. Kharkiv: Publishing House «Fort». 2018:290. (In Ukrainian). URL: https://old.karazin.ua/docs/med-1.pdf
11. Chernyshova LI, Volokha AP, Kostyuchenko LV, etc. Pediatric Immunology: Textbook (VUZ IV r. a.), «Medicine». 2013:720. (In Ukrainian). URL: https://www.medpublish.com.ua/ditjacha-imunologija-pidruchnik-vnz-v-r-a-l-chernishova-ap-voloha-lv-kostjuchenko-ta-in-za-red-l-chernishovoyi-ap-volohi/p-542.html?srsltid=AfmBOoqpRXbbuC99iBBrhXoqOIc1OnlrZlzOoE4gZpM7SCDEZAbR3smK
12. Nielsen SL, Blak FT, Storgaard V, Obel N. Evalution of a method for measurement of intracellular killing of Staphylococcus aureus in human neutrophilic granulocyte. *Armis*. 1995;103:460–8. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1995.tb01132.x

13. Філіпова Т.О., Гудзенко Т.В., Галкін М.Б., Зінченко О.Ю., Ямборко Г.В., Русакова М.Ю. Імунологічні методи: метод. вказівки до проведення лаб. занять з курсу «Імунологія». Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І.І. Мечникова, 2018. 90 с. URL: https://dspace.onu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/9e6e721b-7325-4d43-b0c9-1d9ea101286d/content
14. Чопяк В., Гаврилюк Г., Зубченко С. та ін. Клінічна імунологія та алергологія: підручник. «Медицина». 2024. 479 с. URL: https://www.medpublish.com.ua/klinichna-imunologija-ta-alergologija-pidruchnik-vv-chopjak-am-gavriljuk-so-zubchenko-ta-in/p-1058.html?srsltid=AfmBOopnEHI0jRouVqaGuXF3fwwnqGZI8pBCWHrw_SWvt0YvUOEWMPnR

13. Filipova TO, Gudzenko TV, Galkin MB, Zinchenko OYu, Yamborko GV, Rusakova MYu. Immunological methods: methodical instructions for conducting lab. classes on the course «Immunology». Odesa: Odessa National University named after I.I. Mechnikov, 2018:90. (In Ukrainian). URL: https://dspace.onu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/9e6e721b-7325-4d43-b0c9-1d9ea101286d/content
14. Chopyak V, Gavrilyuk G, Zubchenko S, etc. Clinical immunology and allergology: textbook. «Medicine». 2024:479. (In Ukrainian). URL: https://www.medpublish.com.ua/klinichna-imunologija-ta-alergologija-pidruchnik-vv-chopjak-am-gavriljuk-so-zubchenko-ta-in/p-1058.html?srsltid=AfmBOopnEHI0jRouVqaGuXF3fwwnqGZI8pBCWHrw_SWvt0YvUOEWMPnR

Перспективи подальших досліджень

В процесі дослідження у дітей, які часто хворіють на ГРІ, із синдромом лімфаденопатії, виявлено поєднання зниженої загальної імунореактивності організму з гіперактивністю окремих субпопуляцій лімфоцитів, що потребують подальшого вивчення.

Prospects for further research

During the study of children who often suffer from acute respiratory viral infections with lymphadenopathy syndrome, a combination of reduced general immunoreactivity of the body with hyperactivity of individual lymphocyte subpopulations was revealed. which require further study.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи.

Conflict of interest

The authors of the manuscript deliberately declare that there is no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.
Робота виконана на кафедрі інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України та клінічній базі кафедри Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна дитяча клінічна лікарня» в рамках науково-дослідної теми: «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування», номер державної реєстрації № 0123U105022, фундаментальна, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

Funding information

Funding from the State Budget of Ukraine.
The work was carried out at the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Faculty of Medicine, of the Ministry of Education and Science of Ukraine and the clinical base of the department of the Municipal Nonprofit Enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional Children's Clinical Hospital» within the framework of the research topic: «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process caused by bacteria, viruses, viral-bacterial associations in acute, protracted and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics», state registration number No. 0123U105022, fundamental, implementation period: 2023–2028, supervisor – Head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Муратов Георгій Рафікович – кандидат медичних наук, доцент кафедри педіатрії №1 та неонатології Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України, просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; заслужений лікар України, директор Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна дитяча клінічна лікарня»; вул. Озерянська, буд. 5, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: muratov103@ukr.net
моб.: +38 (067) 284-77-53
Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Muratov Georgy Rafikovich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pediatrics № 1 and Neonatology of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022; Honored Doctor of Ukraine, Director of the municipal non-profit enterprise Kharkiv regional council «Regional Children's Clinical Hospital»; 5 Ozeryanska Str., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: muratov103@ukr.net
tel.: +38 (067) 284-77-53
Author s contribution: *formulation of the purpose of the work, conducting experimental research, analysis of the obtained data and their statistical processing.*

Савво Олексій Миколайович – кандидат медичних наук, доцент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; магістр з менеджменту організації і адміністрування, медичний директор зі стаціонарної допомоги Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна дитяча клінічна лікарня»; вул. Озерянська, буд. 5, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: o.savvo@karazin.ua

моб.: +38 (050) 300-71-64

Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

Волобуєва Ольга Вікторівна – кандидат медичних наук, доцент, завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: o.volobyeva@karazin.ua

моб.: +38 (099) 048-31-18

Внесок автора*: концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Ржепішевська Олена – доктор медичних наук, професор, науковий співробітник кафедри хімії, співробітник кафедри клінічної мікробіології Університету Умео, Університетсторгет 4, м. Умео, Швеція 901 87;

e-mail: olena.rzhepishevska@umu.se

моб.: +4 (672) 202-99-18

Внесок автора: *аналіз та інтерпретація даних, редагування статті.*

Savvo Oleksiy Mykolayovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Master of Organizational Management and Administration, Medical Director for Inpatient Care of the municipal non-profit enterprise Kharkiv regional council «Regional Children's Clinical Hospital»; 5 Ozeryanska Str., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: o.savvo@karazin.ua

tel.: +38 (050) 300-71-64

Author s contribution: *formulation of the purpose of the work, conducting experimental research, analysis of the obtained data and their statistical processing.*

Volobuieva Olga Viktorivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: o.volobyeva@karazin.ua

tel.: +38 (099) 048-31-18

Author s contribut*ion: research concept and design; collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article; critical revision of the article; final approval of the article.*

Rzhepishevska Olena – Doctor of Medicine, Professor, Staff scientist at Department of Chemistry, Affiliated as research fellow at Department of Clinical Microbiology Umea University; 4 Universitetstorget, Umea, Sweden, 901 87;

e-mail: olena.rzhepishevska@umu.se

tel.: +4 (672) 202-99-18

Author's contribution: *data analysis and interpretation, article editing.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 20.08.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 202–211
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):202–211 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-09
УДК: 616.94-07:616-003.9:615.361:576.362

Імунологічні механізми розвитку аутоімунного гастриту як передракового захворювання шлунка

Лядова Т.І.[1], https://orcid.org/0000-0002-5892-2599, e-mail: t.lyadova@karazin.ua
Гладких Ф. В.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

[1]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Immunological mechanisms of the development of autoimmune gastritis as a precancerous disease of the stomach

Liadova T.I.[1], https://orcid.org/0000-0002-5892-2599, e-mail: t.lyadova@karazin.ua
Hladkykh F.V.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

аутоімунні захворювання, аутоімунний гастрит, слизова оболонка шлунка, рак шлунка, парієтальні клітини.

Для кореспонденції:

Гладких Федір Володимирович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», відділ променевої патології та паліативної медицини;
вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Лядова Т.І., Гладких Ф.В., 2024.*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Шлунково-кишковий тракт вважається найбільшим імунологічним органом, оскільки він містить 70% популяції лімфоцитів організму. Поширеність супутніх аутоімунних захворювань у хворих на аутоімунний гастрит сягає 40%, а найпоширенішими захворюваннями є захворювання щитоподібної залози, цукровий діабет 1-го типу, гемолітична анемія, ревматоїдний артрит, аутоімунний гепатит, міастенія, хвороба Шегрена та ін. Імунна дисрегуляція відіграє ключову роль у патогенезі не тільки аутоімунних захворювань, а й неопластичних поцесів.
Мета роботи – узагальнити сучасні відомості про аутоімунний гастрит, як передраковий стан, за даними відкритих джерел інформації.
Матеріали та методи. Підбір публікацій виконано за базами даних PubMed, Clinical Key Elsevier, Cochrane Library, eBook Business Collection та Google Scholar, у яких висвітлювались відомості про оцінку якості медичної допомоги. На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: аутоімунний гастрит, слизова оболонка шлунка, рак шунка. На другому етапі вивчались резюме статей та виключались публікації, які не відповідали критеріям дослідження. На третьому етапі вивчали повні тексти відібраних статей на відповідність критеріям включення до списку літератури та релевантність досліджень.
Результати та їх обговорення. Виділення окремої форми гастриту, що призводить до розвитку В12-дефіцитної анемії – аутоімунного гастриту, стало можливим завдяки ідентифікації аутоантитіл до аутоантигенів, зокрема антитіл до парієтальних клітин та Н+/К+-аденозинтрифосфатного ферменту в шлунку. Аутоімунний гастрит – це органоспецифічне аутоімунне захворювання, що характеризується хронічним запаленням слизової оболонки шлунка (СОШ), яке розвивається в атрофічний гастрит, що спричиняє порушення всмоктування необхідних елементів і, зрештою, анемію. Хронічне запалення на сьогодні вважається важливим механізмом ініціації канцерогенезу, що викликає, з окрема, гепатоцелюлярну карциному у пацієнтів з гепатитом, рак товстої кишки при запальних захворюваннях кишечника (зокрема, виразковий коліт) та вторинний рак шлунка внаслідок гастриту. Найбільш переконливі приклади канцерогенезу, спричиненого хронічним запаленням, спостерігаються в шлунково-кишковому тракті, де ризик канцерогенезу зростає за наявності хронічних запальних станів, таких як езофагіт, гастрит, коліт, панкреатит, гепатит та ін. П'ятим за поширеністю видом раку та третьою причиною смертності від раку у світі виступає рак шлунка. П'ятирічна виживаність хворих на рак шлунка становить 95–99%, якщо хворобу діагностовано на резектабельній стадії.
Висновки. CD4+ Т-клітини та CD8+Т-клітини спільно підтримують адаптивний імунний гомеостаз СОШ. Атрофія СОШ внаслідок аутоімунного запалення належить до передракових змін та підвищує ризик розвитку аденокарциноми. Тривала гіпо- та ахлоргідрія пов'язана з підвищенням у сироватці крові рівня гастрину, що стимулює проліферацію та гіперплазію ентерохромафіноподібних клітин, що, у свою чергу, може сприяти розвитку нейроендокринних пухлин шлунка.

Для цитування:

Лядова Т.І., Гладких Ф.В. Імунологічні механізми розвитку аутоімунного гастриту як передракового захворювання шлунка. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2(14). С. 202–211. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-09

Key words:

autoimmune diseases, autoimmune gastritis, gastric mucosa, gastric cancer, parietal cells.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Radiology Department;
82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Liadova T.I., Hladkykh F.V., 2024*

ABSTRACT

Background. The gastrointestinal tract is considered the largest immunological organ, as it contains 70% of the body's lymphocyte population. The prevalence of concomitant autoimmune diseases in patients with autoimmune arthritis reaches 40%, and the most common diseases are thyroid gland diseases, type 1 diabetes, hemolytic anemia, rheumatoid arthritis, autoimmune hepatitis, myasthenia gravis, Sjogren's disease, etc. Immune dysregulation plays a key role in the pathogenesis of not only autoimmune diseases, but also neoplastic processes.
Purpose – summarize current information about autoimmune gastritis as a precancerous condition, according to open sources of information.
Materials and Methods. Publications were selected based on PubMed, Clinical Key Elsevier, Cochrane Library, eBook Business Collection and Google Scholar databases, which covered information on the assessment of the quality of medical care. At the first stage, literature sources were searched for keywords: autoimmune gastritis, gastric mucosa, ham cancer. At the second stage, summaries of articles were studied and publications that did not meet the research criteria were excluded. At the third stage, the full texts of the selected articles were studied for compliance with the criteria for inclusion in the literature list and research relevance.
Results. Isolation of a separate form of gastritis that leads to the development of B12-deficient anemia – autoimmune gastritis became possible due to the identification of autoantibodies to autoantigens, in particular antibodies to parietal cells and H+/K+-adenosine triphosphate enzyme in the stomach. Autoimmune gastritis is an organ-specific autoimmune disease characterized by chronic inflammation of the gastrointestinal tract, which develops into atrophic gastritis, which causes malabsorption of necessary elements and, ultimately, anemia. Chronic inflammation is now considered an important mechanism for the initiation of carcinogenesis, causing, in particular, hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis, colon cancer in inflammatory bowel diseases (in particular, ulcerative colitis), and secondary gastric cancer due to gastritis as the most typical examples. The most convincing examples of carcinogenesis caused by chronic inflammation are observed in the gastrointestinal tract, where the risk of carcinogenesis increases in the presence of chronic inflammatory conditions, such as esophagitis, gastritis, colitis, pancreatitis, hepatitis, etc. Stomach cancer is the fifth most common type of cancer and the third leading cause of death from cancer in the world. The five-year survival rate for patients with gastric cancer is 95–99% if the disease is diagnosed at a resectable stage.
Conclusions. CD4+ T cells and CD8+T cells jointly support the adaptive immune homeostasis of OSH. OSA atrophy due to autoimmune inflammation refers to precancerous changes and increases the risk of developing adenocarcinoma. Long-term hypo- and achlorhydria is associated with an increase in the serum level of gastrin, which stimulates the proliferation and hyperplasia of enterochromaffin-like cells, which, in turn, can contribute to the development of neuroendocrine tumors of the stomach.

For citation:

Liadova TI, Hladkykh FV. Immunological mechanisms of the development of autoimmune gastritis as a precancerous disease of the stomach. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):202–211. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-09

ВСТУП

Широкий спектр шлунково-кишкових проявів системних аутоімунних захворювань (АІЗ) впродовж тривалого часу розглядався лише як симптоми або ускладнення лікування основного захворювання. Наприклад, при системному червоному вовчаку ураження шлунково-кишкового тракту (ШКТ) можуть проявлятись виразками стравоходу, вовчаковим ентеритом, гранулематозним гепатитом, первинним біліарним цирозом та ін. [1]. Традиційні терапевтичні препарати проти АІЗ, як правило, є неспецифічними імунодепресантами, такими як нестероїдні проти-

INTRODUCTION

The wide range of gastrointestinal manifestations of systemic autoimmune diseases (AID) has long been regarded merely as symptoms or complications of primary disease treatment. For instance, in systemic lupus erythematosus, gastrointestinal tract (GIT) involvement may present as esophageal ulcers, lupus enteritis, granulomatous hepatitis, primary biliary cirrhosis, and more [1]. Traditional therapeutic agents for AID are generally nonspecific immunosuppressants, such as nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), steroidal anti-inflammatory drugs, and disease-modifying anti-

запальні засоби (НПЗЗ), стероїдні протизапальні препарати та протиревматичні препарати, що модифікують захворювання [2]. Варто зазначити, що НПЗЗ мають доведену ульцерогенну дію на ШКТ [3].

ШКТ вважається найбільшим імунологічним органом, оскільки він містить 70% популяції лімфоцитів організму [4]. З огляду на те, що у ШКТ локалізується значна кількість різноманітних коменсальних бактерій, зрозуміло, що мікробіота відіграє одну з ключових ролей у формуванні та розвитку імунної системи та регуляції імунних відповідей. Останніми роками мікробіота також тісно корелює з АІЗ травної системи [2, 5].

За даними Sun L. та співав. (2023 р.) поширеність АІЗ травної системи стрімко зростає в усьому світі [2]. Імунна система слизової оболонки шлунка (СОШ) взаємодіє з епітеліальними клітинами шлунка, імунними клітинами та сигнальними молекулами. Вроджені імунні клітини в основному містять вроджені лімфоцити, макрофаги, дендритні клітини та адаптивні природні кілери (natural killer – NK). Шлунковий адаптивний імунітет в основному містить Т-клітинний імунітет та В-клітинний імунітет. Епітеліальні клітини шлунка активують клітини вродженого імунітету, такі як макрофаги та дендритні клітини (ДК), сприяють проліферації та диференціюванню Т-клітин та В-клітин, виділяють низку прозапальних і протизапальних цитокінів та беруть участь у регуляції місцевої імунної відповіді, щоб протидіяти інфекції СОШ та сприяти її відновленню [6]. Насправді регуляція імунних клітин СОШ тісно пов'язана з прогресуванням захворювань слизової. Якщо мікробна інфекція або епітеліальні клітини СОШ пошкоджені, це може викликати дисбаланс гомеостазу слизової, який призводить до низки захворювань, у тому числі аутоімунний гастрит (АІГ), захворювання, спричинені Helicobacter pylori (H. pylori) та різні види раку шлунка (РШ) [6]. Варто відзначити, що інфекція H.pylori та аутоімунне запалення СОШ визнані провідними етіологічними факторами хронічного атрофічного гастриту – захворювання, пов'язаного з підвищеним ризиком розвитку РШ [7].

За даними епідеміологічних досліджень Carabotti M. та співавт. (2017 р.) поширеність супутніх АІЗ у хворих на АІГ сягає 40%, а найпоширенішими захворюваннями є захворювання щитоподібної залози, цукровий діабет 1-го типу, гемолітична анемія, ревматоїдний артрит, аутоімунний гепатит, міастенія хвороба Шегрена та ін. [8]. Дослідження Toh B.H. та співавт. показали, що неопластична трансформація при АІГ досягає 10% і що АІГ слід розглядати як передраковий стан із щорічною захворюваністю на РШ 0,3% [9].

Мета роботи – узагальнити сучасні відомості про аутоімунний гастрит, як передраковий стан, за даними відкритих джерел інформації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Підбір публікацій виконано за базами даних PubMed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/), Clinical Key Elsevier (https://www.clinicalkey.com), Cochrane Library (https://www.cochranelibrary.com/), eBook Business Collection (https://www.ebsco.com/), та Google Scholar (https://scholar.google.com/), у яких висвітлювались

The GIT is considered the largest immunological organ as it contains 70% of the body's lymphocyte population [4]. Given the significant number of diverse commensal bacteria residing in the GIT, it is clear that the microbiota plays a key role in the formation and development of the immune system and the regulation of immune responses. Recently, the microbiota has also been closely correlated with digestive system AID [2, 5].

According to Sun L. et al. (2023), the prevalence of digestive system AID is rapidly increasing worldwide [2]. The gastric mucosal immune system interacts with gastric epithelial cells, immune cells, and signaling molecules. Innate immune cells mainly include innate lymphocytes, macrophages, dendritic cells, and adaptive natural killers (NK). Gastric adaptive immunity primarily involves T-cell and B-cell immunity. Gastric epithelial cells activate innate immune cells, such as macrophages and dendritic cells (DC), promote the proliferation and differentiation of T and B cells, secrete several pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, and participate in regulating the local immune response to combat gastric mucosal infections and facilitate its recovery [6].

Regulation of immune cells in the gastric mucosa is closely associated with disease progression. Microbial infections or gastric mucosal epithelial damage may cause mucosal homeostasis imbalance, leading to various diseases, including autoimmune gastritis (AIG), Helicobacter pylori (H.pylori)-induced diseases, and various types of gastric cancer (GC) [6]. Notably, H.pylori infection and autoimmune inflammation of the gastric mucosa are recognized as leading etiological factors of chronic atrophic gastritis, a condition associated with an increased risk of developing GC [7].

Epidemiological studies by Carabotti M. et al. (2017) indicate that the prevalence of comorbid AID in AIG patients reaches 40%, with the most common conditions being thyroid disorders, type 1 diabetes, hemolytic anemia, rheumatoid arthritis, autoimmune hepatitis, myasthenia, Sjögren's disease, and more [8]. Studies by Toh B.H. et al. revealed that neoplastic transformation in AIG reaches 10% and that AIG should be considered a precancerous condition with an annual GC incidence of 0.3% [9].

Objective – of this study is to summarize contemporary information on autoimmune gastritis as a precancerous condition based on open-source data.

MATERIALS AND METHODS

Publications were selected from the databases PubMed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/), Clinical Key Elsevier (https://www.clinicalkey.com), Cochrane Library (https://www.cochranelibrary.com/), eBook Business Collection (https://www.ebsco.com/), and Google Scholar (https://scholar.google.com/) focusing on the assessment

відомості про оцінку якості медичної допомоги. На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: аутоімунний гастрит, слизова оболонка шлунка, рак шунка. На другому етапі вивчались резюме статей та виключались публікації, які не відповідали критеріям дослідження. На третьому етапі вивчали повні тексти відібраних статей на відповідність критеріям включення до списку літератури та релевантність досліджень.

of healthcare quality. In the first stage, literature searches were conducted using the keywords: autoimmune gastritis, gastric mucosa, gastric cancer. In the second stage, article abstracts were reviewed, excluding publications not meeting the study criteria. In the third stage, full texts of the selected articles were studied for inclusion in the literature list and research relevance.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

АІЗ та РШ: патогенетичні паралелі

Імунна дисрегуляція відіграє ключову роль у патогенезі не тільки АІЗ, а і неопластичних поцесів [10]. Хронічне запалення на сьогодні вважається важливим механізмом ініціації канцерогенезу, що викликає, зокрема, гепатоцелюлярну карциному у хворих на гепатит, рак товстої кишки при запальних захворюваннях кишечника (зокрема, виразковий коліт) та вторинний рак шлунка внаслідок гастриту як найбільш типові приклади [11]. За даними Neagu M. та співавт. (2019 р.) формування запального мікрооточення є доведеною умовою, яка сприяє пухлиногенезу. Запалення підтримує проліферацію та виживання злоякісних трансформованих клітин, може сприяти ангіогенезу та метастатичним процесам, може негативно регулювати протипухлинну адаптивну та вроджену імунну відповідь, а також може змінювати ефективність терапевтичних засобів [12].

Як відомо, запалення ініціюється резидентними імунними клітинами, які після активації викликають хемотаксис нейтрофільних гранулоцитів та макрофагів. Т- та В-лімфоцити відіграють ключову роль у подальшій запальній відповіді та ініціюють елімінацію екзогенного чинника [13]. Як відомо, гостре запалення регулюється переважно Th1 Т-лімфоцитами, залученими клітинами вродженого імунітету, які секретують головним чином протипухлинні імунні молекули, такі як інтерлейкін (ІЛ)-2 та інтерферон (ІФ)-γ. Хронічне запалення контролюється регуляторними Т-клітинами (T-reg), клітинами Th2, які секретують пропухлинні фактори, наприклад, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-13, трансформуючий фактор росту-β. Таким чином, популяції Т-клітин, які активують В-клітини, сприяють пухлиногенезу [14]. Виявлено, що В-лімфоцити, як центральний компонент гуморального імунітету, пригнічують Th1-опосередковані протипухлинні імунні відповіді [15].

Розвиток раку, що походить від хронічного запалення, може бути викликаний запальними клітинами та різними медіаторами, які разом створюють запальне мікрооточення [15]. Оскільки хронічна травма або запалення протягом десятиліть може призвести до прогресування пухлини, рак довгий час розглядався як «рана, яка не загоюється» [16]. Найбільш переконливі приклади канцерогенезу, спричиненого хронічним запаленням, спостерігаються в ШКТ, де ризик канцерогенезу зростає за наявності хронічних запальних станів, таких як езофагіт, гастрит, коліт, панкреатит, гепатит та ін. [17].

П'ятим за поширеністю видом раку та третьою причиною смертності від раку у світі виступає РШ [18, 19]. П'ятирічна виживаність пацієнтів з РШ становить 95–99%, якщо хворобу діагностовано на резек-

AID and GC: pathogenetic parallels

Immune dysregulation plays a key role in the pathogenesis of not only AID but also neoplastic processes [10]. Chronic inflammation is currently considered an important mechanism in carcinogenesis initiation, leading to conditions such as hepatocellular carcinoma in hepatitis patients, colorectal cancer in inflammatory bowel diseases (e.g., ulcerative colitis), and secondary GC following gastritis as the most typical examples [11]. According to Neagu M. et al. (2019), the formation of an inflammatory microenvironment is a proven condition that contributes to tumorigenesis. Inflammation supports the proliferation and survival of malignantly transformed cells, promotes angiogenesis and metastatic processes, negatively regulates antitumor adaptive and innate immune responses, and may alter therapeutic efficacy [12].

Inflammation is initiated by resident immune cells, which, upon activation, induce neutrophil and macrophage chemotaxis. T and B lymphocytes play key roles in subsequent inflammatory responses and initiate the elimination of exogenous factors [13]. While acute inflammation is primarily regulated by Th1 T lymphocytes and innate immune cells, which mainly secrete antitumor immune molecules such as interleukin (IL)-2 and interferon-gamma (IFN-γ), chronic inflammation is controlled by regulatory T cells (T-reg) and Th2 cells, secreting protumor factors like IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, and transforming growth factor-beta. These T-cell populations, which activate B cells, contribute to tumorigenesis [14]. B lymphocytes, as a central component of humoral immunity, have been found to suppress Th1-mediated antitumor immune responses [15].

Cancer development originating from chronic inflammation can be triggered by inflammatory cells and various mediators that collectively create an inflammatory microenvironment [15]. Chronic injury or inflammation over decades may lead to tumor progression, with cancer often referred to as a «wound that does not heal» [16]. The most compelling examples of chronic inflammation-induced carcinogenesis are observed in the GIT, where cancer risk increases with chronic inflammatory conditions such as esophagitis, gastritis, colitis, pancreatitis, hepatitis, etc. [17].

GC ranks as the fifth most common cancer type and the third leading cause of cancer mortality worldwide [18, 19]. The five-year survival rate for GC patients is 95–99% if diagnosed at a resectable stage and treated surgically in time, while late-stage survival drops to less than 30% [20].

табельній стадії та своєчасно проведено хірургічне втручання, тоді як виживаність на пізній стадії становить менше 30% [20].

Імунологічні механізми підтримки гомеостазу СОШ

Епітеліальні клітини шлунка здатні експресувати головний комплекс гістосумісності II типу (major histocompatibility complex – MHC) та беруть участь в імунній відповіді, виробляючи цитокіни під час запалення та пошкодження тканин, включаючи ІЛ-6, ІЛ-8, фактор некрозу пухлини α (ФНП-α), ІЛ-1β, ІЛ-1α, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор, моноцитарний хемоатрактант білка-1 та трансформуючий фактор росту-β [6].

Найважливішим компонентом імунної системи слизової оболонки є лімфоїдна тканина, асоційована зі слизовою оболонкою (mucosa-associated lymphoid tissue – MALT), однак наявність цієї тканини у СОШ залишається дискутабельним питанням. На ранній стадії дії патогенного чинника плазматичні клітини у власній пластинці СОШ виробляють та секретують імуноглобулін (ІГ) А. Секреторний ІГ-А може поєднуватися з токсинами патогенних мікроорганізмів та елімінувати мікроорганізми за допомогою лізоцимних бактерій. Окрім ІГ-А, на поверхні СОШ також виявлені ІГ-М та ІГ-G [6]. Клітинний імунітет СОШ відіграє не менш важливу роль у підтримці гомеостазу у шлунку. Антиген-презентуючі клітини СОШ, які експресують Toll-споріднені рецептори (Toll-liked receptors – TLR), презентують антигени ДК, які в свою чергу секретують низку цитокінів, у тому числі ІЛ-12, ІЛ-10 та ІЛ-23, а також спонукають CD4+Т-клітини диференціюватися в субгрупи хелперних Т-клітин, включаючи Th1 (ІФ-γ та ФНП-α), Th2 (ІЛ-4, ІЛ-5 та ІЛ-13), Th17 (ІЛ-17А) та NK-клітини. Крім того, було виявлено, що епітеліальні клітини шлунка можуть активувати CD4+Т-клітини та CD8+ Т-клітини, експресуючи MHC-II [6].

Immunological mechanisms supporting gastric mucosal homeostasis

Gastric epithelial cells are capable of expressing major histocompatibility complex (MHC) class II molecules and participate in immune responses by producing cytokines during inflammation and tissue damage, including IL-6, IL-8, tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), IL-1β, IL-1α, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, monocyte chemoattractant protein-1, and transforming growth factor-beta [6].

The most important component of the mucosal immune system is the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT), though the presence of this tissue in the gastric mucosa remains a debated issue. At the early stages of pathogenic factor action, plasma cells in the gastric mucosa's lamina propria produce and secrete immunoglobulin A (IgA). Secretory IgA can bind toxins of pathogenic microorganisms and eliminate these microorganisms via bacteriolytic enzymes. Besides IgA, IgM and IgG have also been detected on the gastric mucosa surface [6].

Cellular immunity in the gastric mucosa plays an equally important role in maintaining gastric homeostasis. Antigen-presenting cells (APCs) in the gastric mucosa expressing Toll-like receptors (TLRs) present antigens to DCs, which, in turn, secrete a range of cytokines, including IL-12, IL-10, and IL-23. These cytokines stimulate CD4+ T cells to differentiate into helper T cell subgroups, including Th1 (IFN-γ and TNF-α), Th2 (IL-4, IL-5, and IL-13), Th17 (IL-17A), and NK cells. Additio gastric epithelial cells can activate CD4+ and CD8+ T cells by expressing MHC-II [6].

Сучасне уявлення про патогенез АІГ

Як це не парадоксально, але дослідження АІГ почалися задовго до появи перших уявлень про існування самої хвороби. У 1849 р. Addison T., а потім у 1872 р. Biermer A. описали так звану «ідіопатичну анемію», яка призводила до швидкої смерті пацієнтів, і ввели назву «перніціозна анемія» (від лат. perniciosus – смертельний, небезпечний), яка в подальшому отримала назву «анемія Аддісона–Бірмера» [7]. Клінічний зв'язок між запальними захворюваннями шлунка та перніціозною анемією був передбачений ще на початку минулого століття. У 1935 р. Faber K. наводив гіпотезу про гастрит як причину анацидності, яка зазвичай зустрічається у пацієнтів з перніціозною анемією [21]. Однак виділення окремої форми гастриту, що призводить до розвитку В12-дефіцитної анемії, гастриту типу А (аутоімунного), відбулося лише в 1973 р., що стало можливим завдяки ідентифікації аутоантитіл до аутоантигенів, зокрема антитіл до парієтальних клітин та Н+/К+-аденозинтрифосфатного ферменту (АТФ-ази) в шлунку [7].

Як відомо, в нормі парієтальні клітини СОШ, розташовані у фундальних залозах шлунка, виробляють соляну кислоту (HCl) та внутрішній фактор Касла, необхідний для переведення неактивної форми вітаміну В12 в активну, яка може всмоктуватися

Current understanding of AIG pathogenesis

Paradoxically, studies on autoimmune gastritis (AIG) began long before the disease itself was identified. In 1849, Addison T., and later in 1872, Biermer A., described so-called «idiopathic anemia,» which often led to rapid death, introducing the term «pernicious anemia» (from the Latin perniciosus – deadly, dangerous). This was later known as Addison–Biermer anemia [7]. The clinical link between inflammatory gastric diseases and pernicious anemia was hypothesized as early as the beginning of the 20th century. In 1935, Faber K. proposed the hypothesis of gastritis as a cause of anacidity commonly observed in patients with pernicious anemia [21]. However, it wasn't until 1973 that a distinct form of gastritis leading to the development of B12 deficiency anemia, type A gastritis (autoimmune gastritis), was recognized. This was made possible by the identification of autoantibodies against autoantigens, particularly antibodies to parietal cells and the H+/K+-ATPase enzyme in the stomach [7].

Under normal conditions, parietal cells of the gastric mucosa located in the fundic glands produce hydrochloric acid (HCl) and intrinsic factor necessary for converting inactive vitamin B12 into its active form for intestinal absorption. HCl secretion by parietal H+/K+-ATPase creates an acidic environment that

в кишечнику. В свою чергу секреція HCl пристінковою H+/K+-АТФ-азою створює кисле середовище, яке діє як бар'єр для бактерій, що потрапляють всередину, підтримує перетравлення білків і вивільняє поживні речовини з їхніх органічних комплексів, сприяючи їх поглинанню [23].

У 1964 р. Cook J.D. та співавт. оцінювали поглинання харчового негемового заліза в контрольній групі, порівняно з пацієнтами з АІГ, та виявили знижене поглинання заліза (19,8% проти 35,0%) [22]. Дефіцит вітаміну B12 при АІГ спричинений не лише втратою фактора Касла при руйнуванні парієтальних клітин СОШ, а й через втрату шлункової кислоти, яка необхідна для вивільнення вказаного вітаміну з їжі [24].

За даними Coati I. та співавт. [21] у західних країнах спостерігають постійне зниження захворюваності на гастрит, асоційований з H. pylori, у поєднанні зі зростанням епідеміологічного та клінічного впливу АІГ.

АІГ – це органоспецифічне аутоімунне захворювання, що характеризується хронічним запаленням СОШ, яке розвивається в атрофічний гастрит, що спричиняє порушення всмоктування необхідних елементів і, зрештою, анемію [25]. При АІГ антитіла до парієтальних клітин, націлені на H+/K+-АТФ-азу, зумовлюють руйнування цих клітин аутореактивними Т-лімфоцитами, викликаючи запалення у тілі шлунка та прогресуючу атрофію фундальних залоз СОШ. Без достатньої кількості HCl шлунок стає хронічно гіпоацидним і, зрештою – ахлоргідричним. Хронічно підвищений внутрішньошлунковий pH продовжує стимулювати вивільнення гастрину, що призводить до гіпергастринемії, яка призводить до гіперплазії ентерохромафіноподібних клітин із високим ризиком розвитку нейроендокринних пухлин шлунка 1-го типу з часом з частотою від 0,4% до 7,0%, а також аденокарциноми шлунка з частотою до 1,8% на рік [23, 26–28].

Дослідження Zhang Y. та співавт. [29] показали, що у 19,5% пацієнтів під час огляду у лікаря загальної практики виявлено наявність антитіл до парієтальних клітин. Атрофічний гастрит, визначений серологічним тестуванням (співвідношення пепсиногену I та пепсиногену I/II), був виявлений у 46,0% пацієнтів з наявністю антитіл до парієтальних клітин проти 18,0% пацієнтів з негативним результатом. Низка інших досліджень оцінюють поширеність перніціозної анемії або хронічного атрофічного гастриту, проте вони не відображають справжньої поширеності АІГ, оскільки перніціозна анемія є термінальною стадією захворювання, а хронічний атрофічний гастрит виникає не виключно через АІГ [22]. Атрофія СОШ може виникати у двох різних, зазвичай співіснуючих формах. В одній з них зникаючі залозисті одиниці замінюються фіброзним розширенням власної пластинки, що призводить до зменшення залозистої маси без зміни природного залозистого фенотипу. В іншій формі нативні залози замінюються метапластичними залозами, які є власне предикторами неоплазії [21].

Клітинно-опосередкований аутоімунний імунітет при АІГ відіграє провідну роль, підтримувану CD4+ CD25-Th1 лімфоцитами [25]. Більшість цих клітин виробляють ІФ-γ та ФНП-α і мають цитолітичну дію з механізмами, опосередкованими перфорином і лігандом Fas/Fas, які вони експресують у чітко визначених умовах рестрикції генів, продиктованих системою MHC. Вони індукують загибель парієтальserves as a barrier against bacteria, aids in protein digestion, and facilitates nutrient release from organic complexes, promoting their absorption [23].

In 1964, Cook J.D. et al. evaluated dietary non-heme iron absorption in a control group versus AIG patients and found reduced iron absorption (19.8% vs. 35.0%) [22]. Vitamin B12 deficiency in AIG is caused not only by the loss of intrinsic factor due to parietal cell destruction but also by the absence of gastric acid required to release this vitamin from food [24].

According to Coati I. et al. [21], Western countries observe a steady decline in H. pylori-associated gastritis alongside a growing epidemiological and clinical impact of AIG.

AIG is an organ-specific autoimmune disease characterized by chronic gastric mucosal inflammation that develops into atrophic gastritis, impairing essential nutrient absorption and eventually leading to anemia [25]. In AIG, antibodies targeting H+/K+-ATPase of parietal cells cause cell destruction by autoreactive T lymphocytes, leading to inflammation in the gastric corpus and progressive atrophy of the fundic glands. Without sufficient HCl, the stomach becomes chronically hypoacidic and eventually achlorhydric. Chronically elevated gastric pH continues to stimulate gastrin release, leading to hypergastrinemia, which promotes enterochromaffin-like cell hyperplasia and increases the risk of type 1 gastric neuroendocrine tumors (frequency of 0.4% to 7.0%) and gastric adenocarcinoma (annual incidence up to 1.8%) [23, 26–28].

Studies by Zhang Y. et al. [29] found that 19.5% of patients had antibodies to parietal cells detected during primary care visits. Serologically defined atrophic gastritis (pepsinogen I and pepsinogen I/II ratios) was identified in 46.0% of patients with parietal cell antibodies compared to 18.0% without such antibodies. Other studies on pernicious anemia or chronic atrophic gastritis prevalence do not fully reflect true AIG prevalence, as pernicious anemia represents a terminal stage, and chronic atrophic gastritis is not exclusively caused by AIG [22]. Atrophic changes in the gastric mucosa can manifest in two distinct, often coexisting forms. One form involves the replacement of glandular units with fibrotic expansion in the lamina propria, reducing glandular mass without altering the native glandular phenotype. The other form replaces native glands with metaplastic glands, which are predictors of neoplasia [21].

Cell-mediated autoimmunity in AIG plays a leading role, driven by CD4+ CD25-Th1 lymphocytes [25]. Most of these cells produce IFN-γ and TNF-α and exhibit cytolytic effects mediated by perforin and Fas/Fas ligand pathways under defined MHC-restricted gene conditions. These cells induce apoptosis of gastric parietal cells via perforin/granzyme B pathways and IFN-γ-mediated Fas and MHC-II molecule expression on parietal cells [25]. De Block C.E. et al. [30] demonstrated experimentally that administering IFN-γ-neutralizing antibodies prevents gastritis, confirming IFN-γ's critical role in AIG pathogenesis.

As noted, the humoral immune response in AIG is represented by two types of antibodies: antibodies to gastric parietal cells and antibodies to intrinsic factor. Parietal cell antibodies are detected in 80–90% of AIG cases, especially at early disease stages, targeting both α and β subunits of gastric H+/K+-ATPase [25].

них клітин шлунка шляхом апоптозу та шляхом перфорин/гранзим В, зокрема через ІФ-γ, що збільшує експресію молекул Fas і MHC-II на парієтальних клітинах шлунка [25]. De Block CE та співавт. [30] в експерименті довели, що введення ІФ-γ-нейтралізуючого антитіла запобігає розвитку гастриту, що дозволило зробити висновок про те, що вказаний цитокін є важливим у патогенезі АІГ.

Як зазначалось, гуморальна ланка імунітету при АІГ представлена двома типами антитіл: антитіла парієтальних клітин СОШ та антитіла до внутрішнього фактора Касла. Антитіла до парієтальних клітин СОШ при АІГ виявляються з частотою 80–90%, особливо на ранніх стадіях захворювання, і зв'язуються як з α, так і з β субодиницями шлункової Н+/К+-АТФ-ази [25]. На пізніх стадіях АІГ частота виявлення антитіл до парієтальних клітин знижується через прогресування атрофії та втрати парієтальних клітин шлунка. За даними Tozzoli R. та співавт. [31] виявлення в сироватці крові антитіл до парієтальних клітин СОШ на субклінічній стадії, особливо у пацієнтів з аутоімунними ендокринними захворюваннями, є прогностичним фактором АІГ.

Як відомо, роль внутрішнього фактора Касла, який секретується парієтальними клітинами шлунка, полягає у зв'язуванні та транспортуванні вітаміну В12 до термінального відділу клубової кишки, де він абсорбується після зв'язування зі специфічними рецепторами в мембранах клітин просвіту клубової кишки. Антитіла до внутрішнього фактора Касла вважаються специфічними маркерами для АІГ та виявляться як у сироватці крові, так і в шлунковому соку 30–50% пацієнтів з АІГ [32].

Роль інфекції H.pylori в імунологічних змінах в СОШ

H.pylori колонізує приблизно у 50% населення світу. Вказана інфекція підвищує ризик позашлункових і шлункових захворювань, у тому числі виразкову хворобу, АІГ та РШ [33]. Інфекція H.pylori викликає Th1 Т-клітинну відповідь, що призводить до вироблення ІЛ-2 та ІФ-γ. Взаємодія між H.pylori та В-лімфоцитами призводить до неконтрольованого росту та проліферації переважно CD5+ В-клітин. Ці клітини виробляють поліреактивні та аутореактивні антитіла ІГ-М та ІГ-G3. Дослідження показали, що хронічна інфекція H.pylori та, як наслідок, вплив уреази, призводять до стимуляції та збільшення виживання цієї підгрупи В-лімфоцитів. Крім того, вироблені антитіла не приводять до елімінації збудника та можуть призвести до вироблення аутореактивних антитіл до Н+/К+-АТФ-ази [34].

Цікаво, що інфекція H.pylori здатна викликати зміни складу шлункових мікроорганізмів, у тому числі Bacteroides, Proteus, Actinomyces, Clostridium та ін. [6, 35]. Ці зміни мікрофлори шлунка можуть впливати на імунну відповідь, індуковану H.pylori, і сприяти прогресуванню гастриту. В експерименті з інфікуванням H.pylori було виявлено, що відносна кількість Proteus зменшувалась, а кількість Streptococcus мала тенденцію до збільшення [36]. Таким чином, взаємодія між шлунковою мікробіотою та H.pylori відіграє вирішальну роль у регуляції імунної відповіді шлунка [6].

At later AIG stages, parietal cell antibody detection decreases due to progressive atrophy and loss of parietal cells. According to Tozzoli R. et al. [31] serum detection of parietal cell antibodies at subclinical stages, especially in patients with autoimmune endocrine diseases, is a prognostic factor for AIG.

The intrinsic factor secreted by gastric parietal cells plays a critical role in binding and transporting vitamin B12 to the terminal ileum, where it is absorbed after binding specific receptors in luminal membrane cells. Intrinsic factor antibodies are considered specific markers for AIG and are detected in serum and gastric juice in 30–50% of AIG patients [32].

The role of H.pylori infection in immunological changes in the gastric mucosa

H.pylori colonizes approximately 50% of the world's population. This infection increases the risk of extragastric and gastric diseases, including peptic ulcers, AIG, and GC [33]. H.pylori infection triggers a Th1 T-cell response, leading to the production of IL-2 and IFN-γ. Interaction between H.pylori and B lymphocytes results in uncontrolled growth and proliferation of predominantly CD5+ B cells. These cells produce polyreactive and autoreactive IgM and IgG3 antibodies. Studies have demonstrated that chronic H.pylori infection, along with the exposure to urease, stimulates and prolongs the survival of this B lymphocyte subset. Furthermore, the antibodies produced fail to eliminate the pathogen and may lead to the production of autoreactive antibodies against H+/K+-ATPase [34].

Interestingly, H. pylori infection can alter the composition of gastric microorganisms, including Bacteroides, Proteus, Actinomyces, Clostridium, and others [6, 35]. These changes in the gastric microbiota may affect the immune response induced by H. pylori and contribute to the progression of gastritis. Experimental H.pylori infection revealed a decrease in Proteus abundance and a trend toward increased Streptococcus levels [36]. Thus, the interaction between gastric microbiota and H.pylori plays a crucial role in regulating gastric immune responses [6].

ВИСНОВКИ

CD4+Т-клітини та CD8+Т-клітини спільно підтримують адаптивний імунний гомеостаз СОШ. Атрофія СОШ внаслідок аутоімунного запалення належить до передракових змін та підвищує ризик розвитку аденокарциноми. Тривала гіпо- та ахлоргідрія пов'язана з підвищенням у сироватці крові рівня гастрину, що стимулює проліферацію та гіперплазію ентерохромафіноподібних клітин, що, у свою чергу, може сприяти розвитку нейроендокринних пухлин шлунка.

CONCLUSIONS

CD4+ T cells and CD8+ T cells jointly maintain adaptive immune homeostasis in the gastric mucosa. Gastric mucosal atrophy caused by autoimmune inflammation is considered a precancerous condition, increasing the risk of adenocarcinoma development. Prolonged hypo- and achlorhydria are associated with elevated serum gastrin levels, which stimulate the proliferation and hyperplasia of enterochromaffin-like cells. This, in turn, may contribute to the development of gastric neuroendocrine tumors.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hegazi M.O., Owayed S.F., Mourou M., Joneja M., Mashankar A. Lymphocytic enterocolitis in systemic lupus erythematosus. *Saudi Journal of Gastroenterology.* 2009. Vol. 15, № 4. P. 274–276. DOI: https://doi.org/10.4103/1319-3767.56100
2. Sun L., Zhang B. The digestive system and autoimmunity. *BMC Immunology.* 2023. Vol. 24, № 1. 36 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s12865-023-00561-4
3. Hladkykh F.V. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: ways to optimize therapeutic and side effects. Vinnytsia: Tvory, 2022. 216 p. DOI: https://doi.org/10.46879/2022.1
4. Pabst R., Russell M.W., Brandtzaeg P. Tissue distribution of lymphocytes and plasma cells and the role of the gut. *Trends in Immunology*. 2008. Vol. 29, № 5. P. 206–208. DOI: https://doi.org/10.1016/j.it.2008.02.006
5. Wu H.J., Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes.* 2012. Vol. 3, № 1. P. 4–14. DOI: https://doi.org/10.4161/gmic.19320
6. Liu S., Deng Z., Zhu J. Gastric immune homeostasis imbalance: An important factor in the development of gastric mucosal diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2023. Vol. 161. 114338 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114338
7. Livzan M.A., Gaus O.V., Mozgovoi S.I., Bordin D.S. Chronic Autoimmune Gastritis: Modern Diagnostic Principles. *Diagnostics*. 2021. Vol. 11, № 11. 2113 p. DOI: https://doi.org/10.3390/diagnostics11112113
8. Carabotti M., Lahner E., Esposito G. Upper gastrointestinal symptoms in autoimmune gastritis: A cross-sectional study. *Medicine*. 2017. Vol. 96, № 1. e5784 p. DOI: https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005784
9. Toh B.H. Diagnosis and classification of autoimmune gastritis. *Autoimmunity Reviews.* 2014. Vol. 13, № 4–5. P. 459–462. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.048
10. Matza Porges S., Shamriz O. Genetics of Immune Dysregulation and Cancer Predisposition: Two Sides of the Same Coin. *Clinical and Experimental Immunology.* 2022. Vol. 210, № 2. P. 114–127. DOI: https://doi.org/10.1093/cei/uxac089
11. Waldum H., Fossmark R. Inflammation and Digestive Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 17. 3503 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms241713503
12. Neagu M., Constantin C., Caruntu C. Inflammation: A key process in skin tumorigenesis. *Oncology Letters.* 2019. Vol. 17, № 5. P. 4068–4084. DOI: https://doi.org/10.3892/ol.2018.9735
13. Chen L., Deng H., Cui H. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017. Vol. 9, № 6. P. 7204–7218. DOI: https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208
14. DeNardo D.G., Coussens L.M. Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. *Breast Cancer Research.* 2007. Vol. 9, № 4. 212 p. DOI: https://doi.org/10.1186/bcr1746
15. Quante M., Wang T.C. Inflammation and stem cells in gastrointestinal carcinogenesis. *Physiology*. 2008. Vol. 23. P. 350–359. DOI: https://doi.org/10.1152/physiol.00031.2008
16. Dvorak H.F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *New England Journal of Medicine.* 1986. Vol. 315, № 26. P. 1650–1659. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJM198612253152606
17. Maeda S., Omata M. Inflammation and cancer: role of nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Science*. 2008. Vol. 99, № 5. P. 836–842. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2008.00763.x
18. Wei Q., Wang Z., Liu X. Association between Gastric Cancer and 12 Autoimmune Diseases: A Mendelian Randomization Study. *Genes.* 2023. Vol. 14, № 10. 1844 p. DOI: https://doi.org/10.3390/genes14101844
19. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer Journal for Clinicians*. 2021. Vol. 71, № 3. P. 209–249. DOI: https://doi.org/10.3322/caac.21660

REFERENCES

1. Hegazi MO, Owayed SF, Mourou M, Joneja M, Mashankar A. Lymphocytic enterocolitis in systemic lupus erythematosus. *Saudi Journal of Gastroenterology.* 2009;15(4):274–6. DOI: https://doi.org/10.4103/1319-3767.56100
2. Sun L, Zhang B. The digestive system and autoimmunity. *BMC Immunology.* 2023;24(1):36. DOI: https://doi.org/10.1186/s12865-023-00561-4
3. Hladkykh FV. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: ways to optimize therapeutic and side effects. Vinnytsia: Tvory, 2022:216. DOI: https://doi.org/10.46879/2022.1
4. Pabst R, Russell MW, Brandtzaeg P. Tissue distribution of lymphocytes and plasma cells and the role of the gut. *Trends in Immunology.* 2008;29(5):206–8. DOI: https://doi.org/10.1016/j.it.2008.02.006
5. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes.* 2012;3(1):4–14. DOI: https://doi.org/10.4161/gmic.19320
6. Liu S, Deng Z, Zhu J. Gastric immune homeostasis imbalance: An important factor in the development of gastric mucosal diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2023;161:114338. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114338
7. Livzan MA, Gaus OV, Mozgovoi SI, Bordin DS. Chronic Autoimmune Gastritis: Modern Diagnostic Principles. *Diagnostics*. 2021;11(11):2113. DOI: https://doi.org/10.3390/diagnostics11112113
8. Carabotti M, Lahner E, Esposito G. Upper gastrointestinal symptoms in autoimmune gastritis: A cross-sectional study. *Medicine*. 2017;96(1):e5784. DOI: https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005784
9. Toh BH. Diagnosis and classification of autoimmune gastritis. *Autoimmunity Reviews.* 2014;13(4–5):459–62. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.048
10. Matza Porges S, Shamriz O. Genetics of Immune Dysregulation and Cancer Predisposition: Two Sides of the Same Coin. *Clinical and Experimental Immunology.* 2022;21(2):114–27. DOI: https://doi.org/10.1093/cei/uxac089
11. Waldum H, Fossmark R. Inflammation and Digestive Cancer. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023;24(17):3503. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms241713503
12. Neagu M, Constantin C, Caruntu C. Inflammation: A key process in skin tumorigenesis. *Oncology Letters*. 2019;17(5):4068–84. DOI: https://doi.org/10.3892/ol.2018.9735
13. Chen L, Deng H, Cui H. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017;9(6):7204–18. DOI: https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208
14. DeNardo DG, Coussens LM. Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. *Breast Cancer Research.* 2007;9(4):212. DOI: https://doi.org/10.1186/bcr1746
15. Quante M, Wang TC. Inflammation and stem cells in gastrointestinal carcinogenesis. *Physiology*. 2008;23:350–9. DOI: https://doi.org/10.1152/physiol.00031.2008
16. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *New England Journal of Medicine.* 1986;315(26):1650–9. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJM198612253152606
17. Maeda S, Omata M. Inflammation and cancer: role of nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Science*. 2008;99(5):836–42. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2008.00763.x
18. Wei Q, Wang Z, Liu X. Association between Gastric Cancer and 12 Autoimmune Diseases: A Mendelian Randomization Study. *Genes*. 2023;14(10):1844. DOI: https://doi.org/10.3390/genes14101844
19. Sung H, Ferlay J, Siegel RL. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer Journal for Clinicians.* 2021;71(3):209–49. DOI: https://doi.org/10.3322/caac.21660

20. Tanabe S., Ishido K., Matsumoto T., et al. Long-term outcomes of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer: a multicenter collaborative study. *Gastric Cancer.* 2017. Vol. 20, Suppl. 1. P. 45–52. DOI: https://doi.org/10.1007/s10120-016-0664-7
21. Coati I., Fassan M., Farinati F., et al. Autoimmune gastritis: Pathologist's viewpoint. *World Journal of Gastroenterology*. 2015. Vol. 21, № 42. P. 12179–12189. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i42.12179
22. Kulnigg-Dabsch S. Autoimmune gastritis. *Wiener Medizinische Wochenschrift.* 2016. Vol. 166, № 13–14. P. 424–430. DOI: https://doi.org/10.1007/s10354-016-0515-5
23. Taylor L., McCaddon A., Wolffenbuttel B.H.R. Creating a Framework for Treating Autoimmune Gastritis-The Case for Replacing Lost Acid. *Nutrients.* 2024. Vol. 16, № 5. 662 p. DOI: https://doi.org/10.3390/nu16050662
24. Hershko C., Patz J., Ronson A. The anemia of achylia gastrica revisited. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2007. Vol. 39, № 2. P. 178–183. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2007.03.006
25. Bizzaro N., Antico A., Villalta D. Autoimmunity and Gastric Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, № 2. 377 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms19020377
26. Carabotti M., Annibale B., Lahner E. Common Pitfalls in the Management of Patients with Micronutrient Deficiency: Keep in Mind the Stomach. *Nutrients*. 2021. Vol. 13, № 1. 208 p. DOI: https://doi.org/10.3390/nu13010208
27. Conti L., Annibale B., Lahner E. Autoimmune Gastritis and Gastric Microbiota. *Microorganisms*. 2020. Vol. 8, № 11. 1827 p. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms8111827
28. Zhang H., Jin Z., Cui R., et al. Autoimmune metaplastic atrophic gastritis in Chinese: a study of 320 patients at a large tertiary medical center. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 2017. Vol. 52, № 2. P. 150–156. DOI: https://doi.org/10.1080/00365521.2016.1236397
29. Zhang Y., Weck M.N., Schöttker B., et al. Gastric parietal cell antibodies, Helicobacter pylori infection, and chronic atrophic gastritis: evidence from a large population-based study in Germany. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 2013. Vol. 22, № 5. P. 821–826. DOI: https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-1343
30. De Block C.E., De Leeuw I.H., Van Gaal L.F. Autoimmune gastritis in type 1 diabetes: a clinically oriented review. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008. Vol. 93, № 2. P. 363–371. DOI: https://doi.org/10.1210/jc.2007-2134
31. Tozzoli R., Kodermaz G., Perosa A.R. Autoantibodies to parietal cells as predictors of atrophic body gastritis: a five-year prospective study in patients with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity Reviews.* 2010. Vol. 10, № 2. P. 80–83. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.08.006
32. Carmel R. Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. C*linical and Experimental Immunology*. 1992. Vol. 89, № 1. P. 74–77. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1992.tb06880.x
33. De Re V., Repetto O., Zanussi S., et al. Protein signature characterizing Helicobacter pylori strains of patients with autoimmune atrophic gastritis, duodenal ulcer and gastric cancer. *Infectious Agents and Cancer.* 2017. Vol. 12. 22 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s13027-017-0133-x
34. Hasni S., Ippolito A., Illei G.G. Helicobacter pylori and autoimmune diseases. *Oral Diseases*. 2011. Vol. 17, № 7. P. 621–627. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01796.x
35. Yang I., Woltemate S., Piazuelo M.B., et al. Different gastric microbiota compositions in two human populations with high and low gastric cancer risk in Colombia. *Scientific Reports.* 2016. Vol. 6. 18594 p. DOI: https://doi.org/10.1038/srep18594
36. Li X.X., Wong G.L., To K.F., et al. Bacterial microbiota profiling in gastritis without Helicobacter pylori infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One*. 2009. Vol. 4, № 11. e7985 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007985

20. Tanabe S, Ishido K, Matsumoto T, et al. Long-term outcomes of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer: a multicenter collaborative study. *Gastric Cancer.* 2017;20(1):45–52. DOI: https://doi.org/10.1007/s10120-016-0664-7
21. Coati I, Fassan M, Farinati F, et al. Autoimmune gastritis: Pathologist's viewpoint. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(42):12179–89. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i42.12179
22. Kulnigg-Dabsch S. Autoimmune gastritis. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2016;166(13–14):424–30. DOI: https://doi.org/10.1007/s10354-016-0515-5
23. Taylor L, McCaddon A, Wolffenbuttel BHR. Creating a Framework for Treating Autoimmune Gastritis-The Case for Replacing Lost Acid. *Nutrients*. 2024;16(5):662. DOI: https://doi.org/10.3390/nu16050662
24. Hershko C, Patz J, Ronson A. The anemia of achylia gastrica revisited. *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2007;39(2):178–83. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2007.03.006
25. Bizzaro N, Antico A, Villalta D. Autoimmunity and Gastric Cancer. *International Journal of Molecular Sciences.* 2018;19(2):377. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms19020377
26. Carabotti M, Annibale B, Lahner E. Common Pitfalls in the Management of Patients with Micronutrient Deficiency: Keep in Mind the Stomach. *Nutrients*. 2021;13(1):208. DOI: https://doi.org/10.3390/nu13010208
27. Conti L, Annibale B, Lahner E. Autoimmune Gastritis and Gastric Microbiota. *Microorganisms*. 2020;8(11):1827. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms8111827
28. Zhang H, Jin Z, Cui R, et al. Autoimmune metaplastic atrophic gastritis in Chinese: a study of 320 patients at a large tertiary medical center. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 2017;52(2):150–6. DOI: https://doi.org/10.1080/00365521.2016.1236397
29. Zhang Y, Weck MN, Schöttker B, et al. Gastric parietal cell antibodies, Helicobacter pylori infection, and chronic atrophic gastritis: evidence from a large population-based study in Germany. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 2013;22(5):821–6. DOI: https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-1343
30. De Block CE, De Leeuw IH, Van Gaal LF. Autoimmune gastritis in type 1 diabetes: a clinically oriented review. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008;93(2):363–71. DOI: https://doi.org/10.1210/jc.2007-2134
31. Tozzoli R, Kodermaz G, Perosa AR. Autoantibodies to parietal cells as predictors of atrophic body gastritis: a five-year prospective study in patients with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity Reviews.* 2010;10(2):80–3. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.08.006
32. Carmel R. Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. *Clinical and Experimental Immunology.* 1992;89(1):74–7. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1992.tb06880.x
33. De Re V, Repetto O, Zanussi S, et al. Protein signature characterizing Helicobacter pylori strains of patients with autoimmune atrophic gastritis, duodenal ulcer and gastric cancer. *Infectious Agents and Cancer.* 2017;12:22. DOI: https://doi.org/10.1186/s13027-017-0133-x
34. Hasni S, Ippolito A, Illei GG. Helicobacter pylori and autoimmune diseases. *Oral Diseases*. 2011;17(7):621–7. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01796.x
35. Yang I, Woltemate S, Piazuelo MB, et al. Different gastric microbiota compositions in two human populations with high and low gastric cancer risk in Colombia. *Scientific Reports*. 2016;6:18594. DOI: https://doi.org/10.1038/srep18594
36. Li XX, Wong GL, To KF, et al. Bacterial microbiota profiling in gastritis without Helicobacter pylori infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One.* 2009;4(11):e7985. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007985

Перспективи подальших досліджень

Вивчення впливу сучасних імуносупресивних та імуномодулюючих препаратів на перебіг аутоімунного гастриту та ризик канцерогенезу.

Prospects for further research

Study of the impact of modern immunosuppressive and immunomodulatory drugs on the course of autoimmune gastritis and the risk of carcinogenesis.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

The author of the manuscript consciously confirm the absence of any actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject matter of the provided materials or that sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування **Funding information**

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування», номер державної реєстрації 0123U105022, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

This article is a part of the planned research work of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, titled «Study of the role of immune, autoimmune, and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of infectious processes caused by bacteria, viruses, and virus-bacterial associations in acute, prolonged, and chronic disease courses, and improving treatment tactics», state registration number 0123U105022, execution period: 2023–2028, head – head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuieva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Лядова Тетяна Іванівна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, декан медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: t.lyadova@karazin.ua

моб.: +38 (050) 692-45-41

Внесок автора: *ідея огляду, узагальнення та написання тексту статті.*

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, старший науковий співробітник відділу променевої патології та паліативної медицини Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;

e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

моб.: +38 (099) 782-78-72

Внесок автора: *підбір літературних джерел, узагальнення та написання тексту статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Liadova Tetyana Ivanivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology Dean of the medical faculty V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: t.lyadova@karazin.ua

tel.: +38 (050) 692-45-41

Внесок автора: *selection of literary sources, generalization and writing of the text of the article.*

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy (PhD) in Health Care in specialty «Medicine», Doctoral student (Doctor of Sciences) of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

tel.: +38 (099) 782-78-72

Author's contribution: *selection of literary sources, generalization and writing of the text of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 11.10.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 20.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

Каразінський імунологічний журнал. 2024. Т. 7. № 2(14). С. 212–225
Karazin Journal of Immunology. 2024;7(2(14)):212–225 ISSN 3083-5615 (Online)

DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-10
УДК: 615.

Клінічний випадок IgG4-асоційованого захворювання із поліорганним ураженням

Лук'яненко Т.В.[1], https://orcid.org/0009-0002-6622-0279, e-mail: lukyantv@ukr.net
Посохова А.І.[2], https://orcid.org/0009-0009-2496-6508, e-mail: anna84posokhova@gmail.com
Біляєва В.С.[2], https://orcid.org/0009-0009-8432-2042, e-mail: Sevcukv04@gmail.com
Кордюмова А.К.[3], https://orcid.org/0009-0005-0268-4471, e-mail: anastasiakord@ukr.net
Воронкова О.А.[4], https://orcid.org/0009-0001-4802-2634, e-mail: lenycya0497@gmail.com

[1]Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня № 13» Харківської міської ради, Харків, Україна
[2]Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна багатопрофільна лікарня № 25» Харківської міської ради, Харків, Україна
[3]Комунальне некомерційне підприємство «Берестинська центральна районна лікарня», Берестин, Україна
[4]Комунальне некомерційне підприємство «Міська лікарня №1» Харківської міської ради, Харків, Україна

Clinical case of IgG4-associated disease with multi-organ involvement

Lukianenko T.V.[1], https://orcid.org/0009-0002-6622-0279, e-mail: lukyantv@ukr.net
Posokhova A.I.[2], https://orcid.org/0009-0009-2496-6508, e-mail: anna84posokhova@gmail.com
Biliaieva V.S.[2], https://orcid.org/0009-0009-8432-2042, e-mail: Sevcukv@gmail.com
Kordiumova A.K.[3], https://orcid.org/0009-0005-0268-4471, e-mail: anastasiakord@ukr.net
Voronkova O.A.[4], https://orcid.org/0009-0001-4802-2634, e-mail: lenycya0497@gmail.com

[1]Municipal non-commercial institution «Kharkiv city clinical hospital № 13» of Kharkiv regional council, Kharkiv, Ukraine Kharkiv regional council, Kharkiv, Ukraine
[2]Municipal non-commercial enterprise «Municipal clinical multiprofile hospital No. 25» of the Kharkiv regional council, Kharkiv, Ukraine
[3]Municipal Non-Profit Enterprise «Berestyn City Hospital», Berestyn, Ukraine
[4]Municipal Non-Profit Enterprise «City Hospital No. 1» of the Kharkiv City Council, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

IgG4-асоційоване захворювання, поліорганне ураження, імуноопосередкована патологія, серцево-судинна система, глюкокортикостероїдна терапія.

Для кореспонденції:

Лук'яненко Тетяна Василівна
Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня № 13» Харківської міської ради, терапевтичне відділення;
просп. Аерокосмічний, буд. 137, м. Харків, Україна, 61124;
e-mail: lukyantv@ukr.net

© Лук'яненко Т.В., Посохова А.І., Біляєва В.С., Кордюмова А.К., Воронкова О.А., 2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. IgG4-асоційоване захворювання (IgG4-АЗ) є рідкісною імуноопосередкованою патологією із різноманітними клінічними проявами, які можуть включати поліорганне ураження. Це захворювання часто діагностується випадково та має підвищений ризик ураження серцево-судинної системи, що робить його важливим об'єктом для клінічного дослідження.
Мета роботи – описати клінічний випадок IgG4-АЗ із поліорганним ураженням, зокрема серцево-судинної системи, та підкреслити особливості діагностики і лікування цього захворювання в умовах обмеженої доступності до специфічних лабораторних досліджень.
Матеріали та методи. У статті наведено випадок госпіталізації пацієнта з підтвердженим IgG4-АЗ. Діагностика проводилася на основі клінічних, лабораторних, інструментальних даних, із застосуванням глюкокортикостероїдної терапії та інших методів підтримувального лікування.
Результати та їх обговорення. Призначення глюкокортикостероїдної терапії сприяло значному покращенню стану пацієнта, зменшенню симптомів ураження внутрішніх органів. Попри терапію, захворювання призвело до незворотних пошкоджень органів, зокрема через труднощі в діагностиці, зумовлені обмеженими можливостями проведення специфічних досліджень.
Висновки. Випадок підтверджує складність діагностики та терапії IgG4-АЗ, особливо за умов обмежених діагностичних ресурсів. Необхідно враховувати ризик поліорганного ураження та важливість своєчасного введення специфічної терапії.

Для цитування:

Лук'яненко Т.В., Посохова А.І., Біляєва В.С., Кордюмова А.К., Воронкова О.А. Клінічний випадок IgG4-асоційованого захворювання із поліорганним ураженням. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2(14). С. 212–225. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-10

Key words:

IgG4-related disease, multi-organ involvement, immunomediated condition, cardiovascular system, glucocorticoid therapy.

For correspondence:

Lukianenko Tetiana Vasylivna
Municipal non-commercial institution «Kharkiv city clinical hospital № 13» of Kharkiv regional council, therapeutic department;
137 Aerokosmichnyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61124;
e-mail: lukyantv@ukr.net

© *Lukianenko T.V., Posokhova A.I., Biliaieva V.S., Kordiumova A.K., Voronkova O.A., 2024*

ABSTRACT

Background. IgG4-related disease (IgG4-RD) is a rare immunomediated condition with a range of clinical manifestations that can include multi-organ involvement. This disease is often diagnosed incidentally and presents a significant risk to the cardiovascular system, making it a crucial subject for clinical research.
Purpose – to present a clinical case of IgG4-RD with multi-organ involvement, particularly affecting the cardiovascular system, and to highlight the diagnostic and therapeutic challenges associated with limited access to specific laboratory tests.
Materials and Methods. This article describes a case of a patient hospitalized with confirmed IgG4-RD. Diagnosis was based on clinical, laboratory, and instrumental data, using glucocorticoid therapy and other supportive treatments.
Results. Glucocorticoid therapy resulted in a significant improvement in the patient's condition, reducing symptoms of internal organ involvement. Despite therapy, the disease led to irreversible organ damage due to diagnostic challenges linked to limited access to specific testing.
Conclusions. This case highlights the difficulty of diagnosing and treating IgG4-RD, especially in settings with limited diagnostic resources. Awareness of the risk of multi-organ involvement and timely initiation of specific therapy are essential.

For citation:

Lukianenko TV, Posokhova AI, Biliaieva VS, Kordiumova AK, Voronkova OA. Clinical case of IgG4-associated disease with multi-organ involvement. *Karazin Journal of Immunology.* 2024;7(2(14)):212–225. DOI: https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-10

ВСТУП

У структурі імуноопосередкованої патології IgG4-асоційоване захворювання (IgG4-АЗ) є досить рідкісним, оскільки його поширеність складає 0,28–1,08 випадків на 100 тис. населення і, зазвичай, дебют захворювання припадає на вік 50–70 років. Переважно це чоловіки, які звертаються по медичну допомогу зі скаргами, що характеризують залучення до патологічного процесу переважно панкреатобіліарної системи та інших. Співвідношення чоловіків і жінок складає 3:1, але зареєстровані випадки захворювання і серед дітей. Щодо статі менше співвідношення спостерігається серед пацієнтів із залученням у патологічний процес слинних залоз [1, 2].

IgG4-АЗ – імуноопосередковане фіброзно-запальне захворювання, перебігу якого притаманне утворення пухлиноподібних та склеротичних осередків із щільними лімфоплазмоцитарними інфільтратами, де переважають IgG4-плазматичні клітини [1, 3].

Етіопатогенез IgG4-АЗ залишається невідомим. Дослідження відводять певні ролі для Т-клітин, гладких клітин, що продукують значну кількість ІЛ-4, ІЛ-10 та TGF-β. Також є дослідження, які показують значення таких цитокінів як ІЛ-21 та ІЛ-27, продуковані макрофагами й іншими антигенпрезентуючими клітинами, що беруть участь у диференціації Т-хелперів. На стадії дослідження визначення участі еозинофілів, базофілів при IgG4-АЗ [1].

INTRODUCTION

IgG4-related disease (IgG4-RD) is a rare condition with a prevalence of 0.28–1.08 cases per 100 thousand population. Typically, the onset of the disease occurs at the age of 50–70 years, predominantly among men who seek medical help with symptoms indicative of the involvement of mainly the pancreatobiliary system and other organs. The male to female ratio is 3:1, although cases have also been reported among children. Less gender disparity is observed among patients with involvement of salivary glands [1, 2].

IgG4-RD is an immunomediated fibrosing inflammatory disease characterized by the formation of tumor-like and sclerotic foci with dense lymphoplasmacytic infiltrates, where IgG4 plasma cells predominate [1, 3].

The etiopathogenesis of IgG4-RD remains unknown. Studies suggest certain roles for T-cells, mast cells producing significant amounts of IL-4, IL-10, and TGF-β. There are also studies indicating the importance of cytokines such as IL-21 and IL-27, produced by macrophages and other antigen-presenting cells involved in T-helper cell differentiation. The role of eosinophils and basophils in IgG4-RD is still under investigation [1].

Certain genetic factors are implicated, including HLA DRB10405 and DQB1040 serotypes, and single nucleotide polymorphisms in some non-HLA genes (FCRL3 and CTLA4). Recurrences of IgG4-RD after rituximab (RTX) therapy have been documented, as well

Певну роль відводять генетичним факторам: серотипам HLA DRB1*0405 та DQB1*040, однонуклеотидним поліморфізмам у деяких не-HLA-генах (FCRL3 та CTLA4). Описані рецидиви IgG4-АЗ після терапії ритуксимабом (RTX), наявність аутоантитіл до лактоферину й карбоангідрази II [1, 4].

Патоморфологічними ознаками IgG4-АЗ є: щільний лімфоплазмоцитарний інфільтрат із високим вмістом IgG4-плазматичних клітин; спіралеподібний фіброз; флебіт, при якому частіше розвивається облітерація просвіту судин, може бути підвищений вміст еозинофілів. Для діагностики захворювання визначається кількість IgG4-плазматичних клітин або індекс IgG4/IgG. При IgG4-АЗ виявляють ≥10 IgG4-плазматичних клітин та/або індекс IgG4/IgG складає > 40% [1, 5].

Загальноприйнятої класифікації IgG4-АЗ на сьогодні немає, перелік нозологічних одиниць щорічно переглядається та доповнюється в залежності від кількості уражених органів та систем.

Клініка захворювання IgG4-АЗ, зазвичай, має підгострий початок, в більшості випадків захворювання діагностується випадково. Терапія *ex juvantibus* глюкокортикоїдами (ГК) є ефективною для даного захворювання. Слід зазначити, що випадки даного імуноопосередкованого фіброзно-запального захворювання були зареєстровані практично для кожної системи органів [6]. Близько 40% випадків характеризувалися маніфестацією з ураженням одного органа, у вигляді об'ємного утворення певної локалізації. У невеликої кількості пацієнтів визначають конституційні симптоми (лихоманка, втрата маси тіла). За даними Єгудіної Є.Д. (2021) та інших авторів, при даному синдромі існує варіативність поєднання уражених органів і систем [1–4].

У разі локалізації IgG4-асоційованого захворювання на голові та шиї найчастіше реєструється ураження слізних залоз, м'яких тканин орбіти, що включає: пухлину орбіти, одно- чи двобічний набряк м'яких тканин орбіти без порушення гостроти зору та симптоми сухого кератокон'юнктивіту; слинних підщелепних залоз (пухлина Кютнера). Одночасне симетричне ураження слізних і слинних залоз має назву хвороби Мікуліча (ХМ) [6–8].

Проявами з боку ЛОР-органів можуть бути: алергічний риніт, поліпи носа, хронічний синусит, фарингіт, трахеїт й ураження голосових зв'язок, об'ємні утворення (кісток лицьового черепа, приносових пазух, середнього вуха), тиреоїдит Ріделя або Хашимото [9], захворювання паращитоподібних залоз (найчастіше, з розвитком гіпопаратиреозу) [1].

Для клінічної картини ураження підшлункової залози при IgG4-АЗ характерно виникнення аутоімунного панкреатиту (АІП) I типу [4], біліарного тракту та печінки – IgG4-подібний склерозуючий холангіт, що у більшості випадків поєднується з АІП I типу [10].

При ураженні легень можливі випадки з клінічною картиною псевдопухлини, інтерстиціальної пневмонії, плевриту, стенозу дихальних шляхів, медіастинальної лімфаденопатії. Рентгенологічно виділяють патерни: щільні вузлики; бронховаскулярний (із потовщенням бронхосудинних пучків і міжчасточкових перегородок); альвеолярно-інтерстиційний (бронхоектази, дифузні затемнення типу «матового скла»); округлі затемнення типу «матового скла» [11].

as the presence of autoantibodies to lactoferrin and carbonic anhydrase II [1, 4].

The pathological features of IgG4-RD include dense lymphoplasmacytic infiltrates with a high content of IgG4 plasma cells, storiform fibrosis, and phlebitis with frequent obliteration of the vascular lumen, and an increased content of eosinophils. For diagnosis, the number of IgG4 plasma cells or the IgG4/IgG index is determined. In IgG4-RD, ≥ 10 IgG4 plasma cells and/or an IgG4/IgG index > 40% are observed [1, 5].

Currently, there is no universally accepted classification for IgG4-RD. The list of nosological units is revised and supplemented annually, depending on the number of affected organs and systems.

Clinically, IgG4-RD usually has a subacute onset, and in most cases, the disease is diagnosed incidentally. *Ex juvantibus* therapy with glucocorticoids (GC) is effective for this disease. Notably, cases of this immunomediated fibrosing inflammatory disease have been reported for nearly every organ system [6]. Around 40% of cases are characterized by the manifestation of a single organ lesion, often as a mass formation of a certain location. A small number of patients have constitutional symptoms (fever, weight loss). According to E.Ye. Yegudina (2021) and other authors, there is a variability in the combination of affected organs and systems in this syndrome [1–4].

When localized to the head and neck, IgG4-RD most commonly involves the lacrimal glands and soft tissues of the orbit, including: orbital tumors, unilateral or bilateral swelling of the orbital soft tissues without visual acuity impairment, and symptoms of dry keratoconjunctivitis; submandibular salivary glands (Kuttner tumor). Simultaneous symmetrical involvement of the lacrimal and salivary glands is known as Mikulicz's disease (MD) [6–8].

Manifestations in the ENT organs may include allergic rhinitis, nasal polyps, chronic sinusitis, pharyngitis, tracheitis, and vocal cord involvement, as well as mass lesions (facial bones, paranasal sinuses, middle ear), Riedel's or Hashimoto's thyroiditis [9], and parathyroid gland disease (commonly with hypoparathyroidism) [1].

In the pancreas, IgG4-RD is characterized by the development of type I autoimmune pancreatitis (AIP) [4], and in the biliary tract and liver, it manifests as IgG4-related sclerosing cholangitis, which is often associated with type I AIP [10].

In the lungs, cases with clinical presentations of pseudotumor, interstitial pneumonia, pleuritis, airway stenosis, and mediastinal lymphadenopathy have been observed. Radiological patterns include: dense nodules; bronchovascular (with thickening of bronchovascular bundles and interlobular septa); alveolar-interstitial (bronchiectasis, diffuse ground-glass opacities); round ground-glass opacities [11].

Most patients exhibit lymphadenopathy, with several groups of lymph nodes (often mediastinal, intra-abdominal, and axillary) involved in the pathological process [12].

Nervous system involvement is typically rare, with cases of hypertrophic pachymeningitis, pituitary involvement (hypopituitarism, diabetes insipidus, and focal brain lesions) described in the literature [13].

Involvement of the retroperitoneal space, kidneys, and large vessels presents as retroperitoneal fibrosis, a chronic inflammatory condition with pronounced

У більшості пацієнтів виявляють лімфаденопатію. Зазвичай до патологічного процесу залучається кілька груп лімфатичних вузлів (найчастіше лімфатичні вузли середостіння, внутрішньочеревні й пахвові) [12].

Залучення нервової системи, зазвичай, зустрічається дуже рідко, в літературі описані випадки гіпертрофічного пахіменінгіту, ураження гіпофіза (гіпопітуїтаризм, нецукровий діабет та локальне об'ємне утворення мозку) [13].

У разі залученнія до патологічного процесу заочеревинного простору, нирок, великих судин спостерігається ретроперитонеальний фіброз як хронічне запальне захворювання з вираженим фіброзом тканин заочеревинного простору, який найчастіше виникає у чоловіків середнього віку й асоціюється із тютюнопалінням. У таких випадках у хворих виникає двобічна обструкція сечоводів із розвитком больового синдрому та анурії; у інших випадках – клінічні ознаки тубулоінтерстиційного нефриту і мембранозного гломерулонефриту, що супроводжуються низьким рівнем комплементу. Ураження артерій представлено IgG4-залежним аортитом, що має зазвичай безсимптомний перебіг, може дебютувати розривом аневризми аорти, характерною ознакою, за даними контрастної комп'ютерної томографії, є кругове потовщення артеріальної стінки [14, 15].

При залученні інших органів при IgG4-АЗ також зареєстровані: алергічні прояви [16], ураження шкіри – від еритематозних бляшок та підшкірних вузликів до залучення значних ділянок шкіри, що супроводжуються виникненням свербежу (шкірна псевдолімфома). Також описано випадки IgG4-асоційованого маститу, простатиту, орхіту, паратестикулярної псевдопухлини, констриктивного перикардиту [17].

Метою роботи було вивчення особливості діагностики IgG4-асоційованого захворювання із поліорганним ураженням. Стандартного лабораторного показника, який би чітко підтвердив IgG4-АЗ, немає. Маркери запального процесу, такі як швидкість осідання еритроцитів і С-реактивний білок, не є характерними для цього захворювання. У третини або й менше пацієнтів із IgG4-АЗ виявляють антинуклеарні антитіла (ANA), ревматоїдний фактор (РФ) у низьких титрах. Виявлення інших, більш специфічних, аутоантитіл не є притаманною ознакою для цього захворювання [16]. При ураженні нирок часто виявляється низький рівень комплементу. Можливі зміни у біохімічному аналізі крові, що свідчить про порушення функції органів-мішеней. У 40% пацієнтів у сироватці крові виявляють підвищення рівня еозинофілів та IgE [1]. У 30% пацієнтів рівні IgG4 у сироватці крові можуть бути у межах нормальних значень [16].

Для інструментального обстеження хворих на IgG4-АЗ в першу чергу застосовується КТ та магнітно-резонансна томографія, ПЕТ КТ із 18-фтордезоксиглюкозою, що дозволяє виявити активні запальні осередки, дати оцінку поширеності захворювання та реакції на лікування, визначити точне місце для біопсії [1, 4, 16]. Також для діагностики широко використовують холангіопанкреатографію та ультразвукове дослідження.

Для визначення IgG4-АЗ використовують діагностичні критерії ACR/EULAR, запропоновані у 2019 р., що включає покрокову діагностику. По-перше,

fibrosis of retroperitoneal tissues, most commonly occurring in middle-aged men and associated with smoking. Patients may develop bilateral ureteral obstruction with pain syndrome and anuria; in other cases, clinical signs of tubulointerstitial nephritis and membranous glomerulonephritis, accompanied by low complement levels, are observed. Arterial involvement is represented by IgG4-related aortitis, usually asymptomatic, potentially debuting with aortic aneurysm rupture; a characteristic feature, based on contrast-enhanced computed tomography, is circumferential thickening of the arterial wall [14–15].

Other reported manifestations of IgG4-RD include allergic symptoms [16], skin involvement – ranging from erythematous plaques and subcutaneous nodules to extensive skin lesions with itching (cutaneous pseudolymphoma). IgG4-related mastitis, prostatitis, orchitis, paratesticular pseudotumor, and constrictive pericarditis have also been described [17].

Objective – there is no standard laboratory indicator that clearly confirms IgG4-RD. Markers of the inflammatory process, such as erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein, are not characteristic of this disease. In one third or fewer patients with IgG4-RD, antinuclear antibodies (ANA) and rheumatoid factor (RF) are detected in low titers. The detection of other, more specific autoantibodies is not typical for this disease [16]. Kidney involvement often shows low complement levels. Changes in biochemical blood tests indicative of organ dysfunction may occur. In 40% of patients, elevated levels of eosinophils and IgE are found in serum [1]. In 30% of patients, IgG4 levels in serum may be within the normal range [16].

For instrumental examination of patients with IgG4-RD, CT and MRI, PET CT with 18-fluorodeoxyglucose are primarily used to detect active inflammatory foci, assess disease spread, and treatment response, and to determine the exact biopsy site [1, 4, 16]. Cholangiopancreatography and ultrasound are also widely used for diagnosis.

The ACR/EULAR diagnostic criteria proposed in 2019, which include step-by-step diagnostics, are used to identify IgG4-RD. First, inclusion criteria are taken into account: characteristic clinical or radiological signs of target organ involvement. Second, exclusion criteria are the absence of clinical: fever, no response to GC therapy; laboratory: leukopenia, thrombocytopenia, antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), ANA, cryoglobulins; radiological: signs of infectious or oncological process, light microscopy data characteristic of other diseases. Additional exclusion criteria include Castleman's disease, Hashimoto's thyroiditis, inflammatory bowel disease. Third, the data of light microscopy, immunohistochemistry, the concentration of IgG4 in serum, bilateral involvement of lacrimal, parotid, sublingual, submandibular salivary glands, chest, pancreas and biliary tract, kidneys, retroperitoneal space are taken into account. The fourth step involves considering classification criteria if the entry criterion is met, no exclusion criteria, and a total score of 20 or more points [4].

The management of these patients is based on the rate of disease progression or the presence of remission, ranging from watchful waiting to immediate treatment in case of internal organ involvement. The literature repeatedly reports instances of spontaneous remission and lack of disease progression in untreated patients

враховуються критерії включення: характерні клінічні або рентгенологічні ознаки уражень органів-мішеней. По-друге, відсутність критеріїв виключення: клінічних – лихоманка, відсутність ефекту від застосування глюкокортикостероїдів (ГКС); лабораторних – лейкопенія, тромбоцитопенія, антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла (ANCA), ANA, кріоглобуліни; рентгенологічні – ознаки інфекційного чи онкологічного процесу, дані світлової мікроскопії, характерні для інших захворювань. Додаткові критерії виключення: хвороба Кастелмана, тиреоїдит Хашимото, запальні захворювання кишечника. По-третє: врахування даних світлової мікроскопії, імуногістохімії, концентрації IgG4 у сироватці крові, двобічного ураження слізних, білявушних, під'язичних, піднижньощелепних слюнних залоз, грудної клітки, підшлункової залози та жовчовивідних шляхів, нирок, ретроперитонеального простору. Четвертим кроком є врахування класифікаційних критеріїв за наявності вхідного критерію, відсутність критеріїв виключення та загальній сумі більше або 20 балів [4].

Тактика ведення таких хворих базується на швидкості прогресування захворювання або наявності ремісії, тобто, від вичікувальної тактики – до негайного лікування при ураженні внутрішніх органів. Серед літературних даних неодноразово повідомлялося про факти спонтанної ремісії та відсутність прогресування захворювання у нелікованих пацієнтів [16, 18]. Показаннями для призначення невідкладного лікування при IgG4-АЗ є наявність аортиту, ретроперитонеального фіброзу, стриктур проксимальних жовчовивідних шляхів, тубулоінтерстиційного нефриту, перикардиту, пахіменінгіту та збільшення підшлункової залози. Інколи виникає потреба в ургентному хірургічному втручанні [2].

Глюкокортикоїди (ГК) визнано препаратами першої лінії для індукції ремісії в усіх хворих з активним IgG4-АЗ за відсутності протипоказань. Призначення преднізолону починають з 0,6 мг/кг маси тіла на добу. Відповідь на терапію ГК зазвичай спостерігається протягом декількох днів чи тижнів, і протягом кількох місяців більшість пацієнтів досягають ремісії. Зниження дози ГК починають за 2–4 тиж. від початку лікування відповідно до міжнародних рекомендацій. Терапію ГК пропонується застосовувати впродовж трьох років [10].

Серед імуносупресорів (при збереженні активності захворювання) рекомендують застосовувати азатіоприн, мікофенолату мофетил, метотрексат, 6-меркаптопурин, такролімус та циклофосфамід [2]. Але, найкращі результати у пацієнтів із IgG4-АЗ відзначено при застосуванні ритуксимабу (RTX), що характеризувалося більш тривалим терміном безрецидивного періоду. Однак, при лікуванні RTX значно частіше реєструвалися тяжкі інфекції та гіпогаммаглобулінемія. Консенсусу щодо дозування та тривалості застосування RTX у літературних даних нами не знайдено [18].

Причиною смерті у цієї групи пацієнтів виступають легеневі захворювання, розрив аневризми аорти, рак та інші причини залежно від клінічної картини [18].

Мета роботи – описати клінічний випадок IgG4-АЗ із поліорганним ураженням, зокрема серцево-судинної системи, та підкреслити особливості діагностики і лікування цього захворювання в умовах обмеженої доступності до специфічних лабораторних досліджень.

[16, 18]. Indications for emergency treatment for IgG4-RD include the presence of aortitis, retroperitoneal fibrosis, strictures of proximal bile ducts, tubulointerstitial nephritis, pericarditis, pachymeningitis, and pancreatic enlargement. Sometimes urgent surgical intervention is required [2].

GCs are recognized as the first-line drugs for inducing remission in all patients with active IgG4-RD without contraindications. Prednisolone administration starts at 0.6 mg/kg body weight per day. The response to GC therapy is usually observed within a few days or weeks, and most patients achieve remission within a few months. GC dose reduction begins 2–4 weeks after the start of treatment according to international recommendations. GC therapy is recommended for three years [10].

Among immunosuppressants (with persistent disease activity), azathioprine, mycophenolate mofetil, methotrexate, 6-mercaptopurine, tacrolimus, and cyclophosphamide are recommended [2]. However, the best results in patients with IgG4-RD have been observed with rituximab (RTX), characterized by longer relapse-free periods. However, severe infections and hypogammaglobulinemia were more frequently registered during RTX treatment. No consensus on the dosage and duration of RTX use was found in the literature [18].

The causes of death in this group of patients include lung diseases, aortic aneurysm rupture, cancer, and other causes depending on the clinical picture [18].

Purpose – to present a clinical case of IgG4-RD with multi-organ involvement, particularly affecting the c ardiovascular system, and to highlight the diagnostic and therapeutic challenges associated with limited access to specific laboratory tests.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічний випадок

До терапевтичного відділення Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна лікарня № 13» наприкінці 2022 р. був госпіталізований чоловік 54 р. зі скаргами на збільшення об'єму живота, задишку при мінімальних фізичних навантаженнях, слабкість, періодичний біль у лівому плечовому суглобі, щільні набряки стоп, гомілок, що супроводжуються свербіжем та почервонінням шкіри. Набряклість у привушній та підщелепній ділянках, сухість в очах, мерзлякуватість, оніміння пальців кистей та стоп (рис. 1–3).

MATERIALS AND METHODS

Clinical Case

At the end of 2022, a 54-year-old man was admitted to the therapeutic department of the Municipal Clinical Hospital No. 13 of the Kharkiv City Council with complaints of abdominal distension, shortness of breath with minimal physical exertion, weakness, periodic pain in the left shoulder joint, dense swelling of the feet and shins, accompanied by itching and redness of the skin. Swelling in the parotid and submandibular areas, dryness in the eyes, cold intolerance, numbness of the fingers and toes. (Figures 1–3).

Рис. 1. Сіалоаденіт білявушних та підщелепних слинних залоз
Fig. 1. Sialadenitis of the parotid and submandibular salivary glands

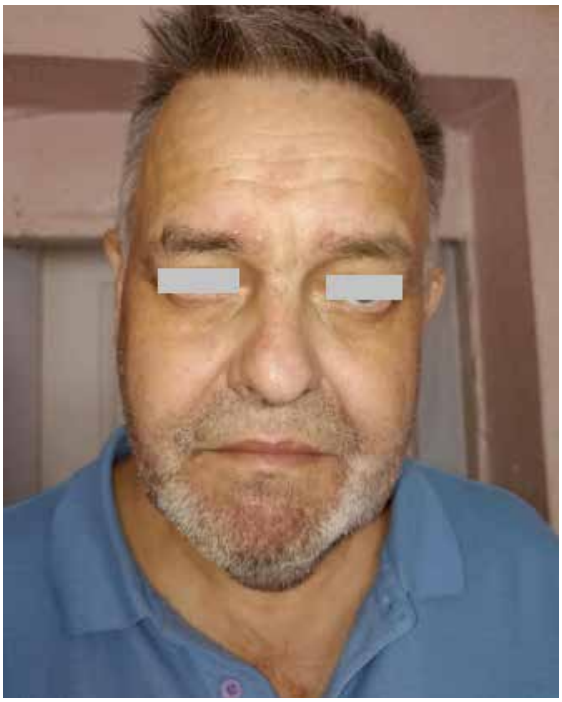

Рис. 2. Сіалоаденіт білявушних та підщелепних слинних залоз
Fig. 2. Sialadenitis of the parotid and submandibular salivary glands

Рис. 3. Осередки гіперпігментації, гіперкератозу
Fig. 3. Areas of hyperpigmentation and hyperkeratosis

Анамнез захворювання: вважає себе хворим протягом багатьох років, коли вперше почав відзначати підвищення артеріального тиску (максимально до 180/110 мм. рт. ст.). Біль у правому плечовому суглобі з'явились близько року тому. Погіршення стану – останні декілька місяців.

Анамнез життя: венеричні захворювання, активний туберкульоз, хвороба Боткіна в молодості, цукровий діабет заперечує. Алергологічний анамнез не обтяжений. Шкідливі звички – заперечує. Оперативні втручання – заперечує.

Епідеміологічний анамнез: на SARS-Cov-2 хворів у 2020 р., вакцинований одноразово вакциною Coronovac.

При об'єктивному обстеженні: загальний стан середньої тяжкості. Конституція: нормостенік. Положення: активне. Свідомість: ясна. Збільшення підщелепних, білявушних слинних залоз. Шкірні покриви: чисті, жовтувато-бурого кольору, ущільнені на гомілках, нижніх двох третинах стегон, із лущенням на гомілках, розгинальній поверхні лівого ліктя. Тургор і еластичність збережені. Помірної вологості. Слизові звичайного кольору, чисті. Периферичні лімфатичні вузли не збільшені. Кістково-суглобова і м'язова системи: чутливість при пальпації та русі у лівому плечовому суглобі, біль при пальпації паравертебрально уздовж хребта з акцентом у шийному відділі. Серцево-судинна система: тони серця приглушені, ритмічні, акцент II тону на аорті та легеневому стовбурі, систолічний шум на верхівці та 5-й точці. Пульс задовільного наповнення та напруги, Ps = ЧСС = 76 за 1 хв., АТ 123/89 мм. рт. ст. Дихальна система: грудна клітка правильної форми. Перкуторно – легеневий звук. Аускультативно – дихання жорстке, ослаблене в нижніх відділах, з обох боків крепітуючі хрипи. ЧДР = 17 за 1 хв. Травна система: язик вологий, обкладений білим нальотом. Живіт симетричний, при пальпації м'який, збільшений за рахунок асциту. Печінка пальпується по краю реберної дуги. Селезінка не пальпується. Стул – оформлений, без патологічних домішок. Сечовипускання – вільне, безболісне, в достатній кількості. Набряки стоп, гомілок, стегон. Координаторні проби із помірним промахуванням. Порушень периферичної чутливості, сили немає.

За результатами лабораторних даних патологічних змін у клінічному аналізі крові при госпіталізації не виявлено, при біохімічному дослідженні встановлено підвищення рівня креатиніну у межах від 123,0 до 142,2 мкмоль/мл, інших порушень виявлено не було.

Пацієнт консультований ревматологом. Для виключення системного захворювання сполучної тканини, зокрема, IgG4 АЗ, під час госпіталізацій проведено такі дослідження. 30.01.2023 р.: тропонін І – 0,16 пг/мл; КФК 26 ОД/л (норма для чоловіків 39,0–308,0 Од/л.), антинуклеарні антитіла (ANA, метод IFT) 1:100 (< 1:100 – негативний результат), ANCA – негативні, імуноглобулін Е (Ig E загальний, сироватка) 93,9 МО/мл (норма менше 100,0 МО/мл), імуноглобулін М (Ig M, сироватка) – 0,68 г/л (норма 0,40–2,30 г/л), імуноглобулін G (Ig G, сироватка) 23,26 г/л (норма 7,00–16,00 г/л).

УЗД слинних залоз: сіалоаденіт білявушних та підщелепних слинних залоз. Оскільки на момент госпіталізації у Харкові дослідження на IgG4 не проводилися, довести наявність даної патології та підтвердити діагноз не було можливим. Поліпшення стану відзначали при застосуванні ГКС.

Medical History: The patient considers himself ill for many years, first noting an increase in blood pressure (up to 180/110 mm Hg). Pain in the right shoulder joint appeared about a year ago. The condition has worsened in recent months.

Life History: The patient denies venereal diseases, active tuberculosis, Botkin's disease in youth, and diabetes mellitus. No allergic history. No bad habits. Denies any surgical interventions.

Epidemiological History: The patient had SARS-Cov-2 in 2020 and was vaccinated once with t he Coronovac vaccine.

Objective Examination: The general condition is of moderate severity. Constitution: normosthenic. Position: active. Consciousness: clear. Enlargement of submandibular and parotid salivary glands. Skin: clean, yellowish-brown color, thickened on the shins, lower two-thirds of the thighs, with flaking on the shins and the extensor surface of the left elbow. Skin turgor and elasticity are preserved. Moderately moist. Mucous membranes of normal color, clean. Peripheral lymph nodes are not enlarged. Musculoskeletal and muscular systems: tenderness on palpation and movement in the left shoulder joint, pain on palpation paravertebrally along the spine with emphasis in the cervical region. Cardiovascular system: heart tones are muffled, rhythmic, accent of the second tone on the aorta and pulmonary trunk, systolic murmur at the apex and 5th point. Pulse is satisfactory in filling and tension, HR = 76 per minute, BP 123/89 mm Hg. Respiratory system: the chest has a proper shape. Percussion – pulmonary sound. Auscultation – breathing is harsh, weakened in the lower parts, crepitant rales on both sides. RR = 17 per minute. Digestive system: tongue moist, coated with white plaque. The abdomen is symmetrical, soft on palpation, increased due to ascites. The liver is palpable at the edge of the costal arch. The spleen is not palpable. Stool is formed, without pathological inclusions. Urination is free, painless, and in sufficient quantity. Swelling of the feet, shins, thighs. Coordination tests show moderate miscalculation. No peripheral sensitivity or strength disturbances.

Laboratory Results: No pathological changes were found in the clinical blood test upon hospitalization. The biochemical study revealed elevated creatinine levels within the range of 123.0 to 142.2 μmol/ml, with no other abnormalities detected.

The patient was consulted by a rheumatologist. To rule out systemic connective tissue disease, particularly IgG4-RD, the following studies were conducted during hospitalization on January 30, 2023: Troponin I: 0.16 pg/ml; CK: 26 U/l (normal for men 39.0–308.0 U/l); Antinuclear antibodies (ANA, IFT method): 1:100 (< 1:100 – negative result); ANCA: negative; Immunoglobulin E (Ig E, serum): 93.9 IU/ml (normal < 100.0 IU/ml); Immunoglobulin M (Ig M, serum): 0.68 g/l (normal 0.40–2.30 g/l); Immunoglobulin G (Ig G, serum): 23.26 g/l (normal 7.00–16.00 g/l).

Ultrasound of Salivary Glands: Sialoadenitis of the parotid and submandibular salivary glands. As IgG4 testing was not available in Kharkiv at the time of hospitalization, it was not possible to confirm the diagnosis. Improvement was noted with the use of glucocorticoids (GC).

Додаткові дослідження: загальний аналіз сечі без патологічних змін, показники коагулограми та ліпідного профілю – у межах норми.

Імуноглобулін G загальний при першому та другому вимірюванні незначно підвищений: 31.01.2023 р. – 23,26 г/л, 12.04.2023 р. – 18,85 г/л (при нормі 7–16 г/л).

Аналіз мокротиння (17.04.23 р.): лейкоцити – 40–50 в п/з; еритроцити – немає; альвеолярні клітини (макрофаги) – мало; волокна, фібрин – немає; спіралі Куршмана – немає; МБТ – немає. CITO TEST SARS-CoV-2 (кожної госпіталізації) – негативний.

Аналіз крові на маркери вірусних гепатитів (12.04.2023 р., 09.08.2023 р.): HBs Ag – негативний; анти-HCV (сум.) – негативний.

22.04.2023 р.: АТ до двоспіральної та односпіральної, ANA, ANCA, компоненти комплементу C3 та C4 – негативні, SS-A, антитіла Ig G, рівень ТТГ та Т4, білкові фракції у межах нормальних значень.

Група крові та резус-фактор (09.08.2023 р.): B(III) Rh+. Лише 18.01.2024 р. СРБ 7,8 мг/л., при інших госпіталізаціях рівні СРБ були у межах норми.

КТ (16.01.2023 р.): лімфаденопатія заочеревинного простору, порожнини малого таза, пахових зон; гепатомегалія (не можна виключити початкові прояви цирозу), кардіомегалія, КТ-ознаки легеневої гіпертензії, КТ-ознаки ХОЗЛ, післязапальні зміни легень, малий двобічний гідроторакс; КТ-ознаки двобічного спастичного сигмоїдиту, доліхосигма; кила СОД 1 ст., малий тазовий асцит, КТ-ознак органічної патології головного мозку не виявлено; КТ-ознаки полісегментарного остеохондрозу, спондилоатрозу хребта.

Рентгенографія ОГК при госпіталізації: (08.04.2023, 08.08.2023, 17.01.2024, 01.07.2024 р.): двобічна пневмонія, вірогідно застійного генезу. Явища перевантаження в малому колі кровообігу.

Рентгенографія ОГК при виписці зі стаціонару (17.04.2023, 22.08.2023, 10.07.2023): позитивна динаміка у вигляді зменшення ділянок затемнення з обох боків, у іншому – збереження раніше діагностованих змін.

Порівняння УЗД серця від 15.02.2023 р. та 05.07.2024 р.: зберігається дилятація правого передсердя, правого шлуночка, відносна недостатність трикуспідального клапана (від 2-го ст. до 2–3 ст.), помірна легенева гіпертензія (СТЛА – від 50 до 45 мм.рт.ст.), локальних порушень скоротливості міокарда не виявлено, діастолічна дисфункція I типу, незначний фіброз стулок мітрального клапана, аортального клапана, атеросклероз кореня аорти, ФВЛШ збережена, але за значенням менше: від 64 до 55%, – перикард не змінено.

ЕКГ (08.04.2023; 17.04.2023; 08.08.2023, 22.08.2023, 17.01.2024, 08.07.2024): Синусовий ритм. Вертикальне положення ЕВС. Ознаки перевантаження правого передсердя. ЧСС 71–76/хв.

УЗД ОЧП (08.04.2023, 08.08.2023; 18.01.2024, 25.06.2024): Гепатомегалія, кальцинозний фіброз печінки, хронічний холецистит, асцит, сліди рідини в плевральних порожнинах.

Тест Ширмера від 28.04.2023 р. з обох боків 2 мм (норма > 15 мм).

Швидкість нестимульованого слиновиділення 0,6 мл/хв (нормальна), стимульованого – 2 мл/хв (нормальна).

Капіляроскопія: ранній «склеродермічний патерн», ознаки венозного застою (рис. 4).

УЗД артерій нижніх кінцівок від 26.04.2023 р., 21.06.2024 р.: ехографічні ознаки гемодинамічно

Additional Studies: General urine analysis: no pathological changes; Coagulogram and lipid profile: within normal limits.

Total immunoglobulin G was slightly elevated in the first and second measurements: January 31, 2023: 23.26 g/l; April 12, 2023: 18.85 g/l (normal 7–16 g/l).

Sputum Analysis (April 17, 2023): Leukocytes: 40–50 per field; Erythrocytes: none; Alveolar cells (macrophages): few; Fibers, fibrin: none; Curschmann's spirals: none; M. tuberculosis: none; CITO TEST SARS-CoV-2 (each hospitalization): negative.

Blood Tests for Viral Hepatitis Markers (April 12, 2023, August 9, 2023): HBs Ag: negative; Anti-HCV (total): negative.

April 22, 2023: Antibodies to double- and single-stranded DNA, ANA, ANCA, complement components C3 and C4: negative; Antibodies to immunoglobulin G SS-A, TSH and T4 levels, protein fractions: within normal limits.

Blood Group and Rh Factor (August 9, 2023): B(III) Rh+; Only on January 18, 2024, CRP 7.8 mg/l; during other hospitalizations, CRP levels were within normal limits.

CT Scan (January 16, 2023): Retroperitoneal lymphadenopathy, pelvic cavity, inguinal zones; Hepatomegaly (cannot exclude early cirrhosis); Cardiomegaly; CT signs of pulmonary hypertension; CT signs of COPD; Post-inflammatory lung changes; Small bilateral pleural effusion; CT signs of bilateral spastic sigmoiditis, dolichosigma; Small bowel ascites; No CT signs of organic brain pathology; CT signs of polysegmental osteochondrosis, spinal spondyloarthrosis.

Chest X-ray upon hospitalization (April 8, 2023; August 8, 2023; January 17, 2024; July 1, 2024): Bilateral pneumonia, likely of congestive origin; Signs of small circulatory overload.

Chest X-ray upon discharge (April 17, 2023; August 22, 2023; July 10, 2023): Positive dynamics in the form of reduced areas of darkening on both sides; Retention of previously diagnosed changes.

Comparison of Echocardiograms from February 15, 2023, and July 5, 2024: Persistent dilation of the right atrium, right ventricle; Relative insufficiency of the tricuspid valve (grade 2 to 2–3); Moderate pulmonary hypertension (PAP from 50 to 45 mm Hg); No local myocardial contractility disorders detected; Type I diastolic dysfunction; Mild fibrosis of the mitral valve leaflets, aortic valve; Aortic root atherosclerosis; Preserved left ventricular ejection fraction but decreased: from 64 to 55%; No pericardial changes.

ECG (April 8, 2023; April 17, 2023; August 8, 2023; August 22, 2023; January 17, 2024; July 8, 2024): Sinus rhythm; Vertical heart position; Signs of right atrial overload; HR 71–76/min.

Abdominal Ultrasound (April 8, 2023; August 8, 2023; January 18, 2024; June 25, 2024): Hepatomegaly; Calcified liver fibrosis; Chronic cholecystitis; Ascites; Traces of fluid in pleural cavities.

Schirmer Test (April 28, 2023): 2 mm on both sides (normal > 15 mm).

Unstimulated saliva flow rate: 0.6 ml/min (normal); Stimulated: 2 ml/min (normal).

Capillaroscopy: Early «scleroderma pattern»; Signs of venous congestion (Figure 4).

ltrasound of the Lower Limb Arteries (April 26, 2023, June 21, 2024): Echographic signs of hemodynamically

значного атеросклеротичного ураження артерій нижніх кінцівок з магістрально-зміненим типом кровотоку.

significant atherosclerotic lesions of the lower limb arteries with a main-altered type of blood flow.

Рис.4. Синдром Рейно
Fig. 4. Raynaud's syndrome

Рентгенографія шийного відділу хребта (11.08.2023): полісегментарний остеохондроз, деформуючий спондильоз на рівні С5-С6, С7-Th1.

Подальші консультації ревматологами, кардіологами, госпіталізації до профільних відділень виключали системну патологію сполучної тканини через неможливість провести діагностику захворювання у Харкові – відсутність показника у прайсі лабораторій, вартість дослідження та відмова їхати у інше місто України. Хворий був визнаний інвалідом другої групи за серцево-судинним захворюванням.

Діагноз: ІХС. Дифузний кардіосклероз. Атеросклероз аорти. Дилятація правого передсердя, правого шлуночка. Відносна недостатність трикуспідального клапана, 2 ст. Помірна легенева гіпертензія (СТЛА – 50 мм.рт.ст.). Гіпертонічна хвороба ІІ ст, 2 ст, ризик 3. СН ІІБ зі збереженою ФВЛШ = 64,36% (від 15.02.23). Асцит. Хронічний ерозивний гастрит, стадія ремісії. Хронічний дуоденіт, стадія ремісії. Кила СОД І ст. Гепатомегалія. ХХН ІІІ ст. (ШКФ за CKD-EPI 50 мл/хв./1,73м^2). Гіпертензивна нефропатія. ДОА, деформуючий остеоартроз плечових, колінних суглобів, рентген-зміни І–ІІ ст., ПФС 1 ст.

Кожного разу, коли декомпенсований пацієнт надходив до нашого відділення, застосування ГКС приводило до значного поліпшення стану. Також пацієнту проводилася терапія сечогінними засобами, НПЗП, ГКС, антибіотиками.

Cervical Spine X-ray (August 11, 2023): Polysegmental osteochondrosis, deforming spondylosis at the levels of C5-C6, C7-Th1.

Further consultations with rheumatologists, cardiologists, and hospitalizations in specialized departments excluded systemic connective tissue pathology due to the inability to conduct the necessary diagnostics in Kharkiv – absence of the indicator in the laboratories' price lists, cost of the study, and refusal to travel to another city in Ukraine. The patient was recognized as a second-degree disabled person due to cardiovascular disease.

Diagnosis: IHD; Diffuse cardiosclerosis; Atherosclerosis of the aorta; Dilation of the right atrium and right ventricle; Relative insufficiency of the tricuspid valve, grade 2; Moderate pulmonary hypertension (PAP – 50 mm Hg); Hypertension, grade II, stage 2, risk 3; CHF IIB with preserved LVEF = 64.36% (as of February 15, 2023); Ascites; Chronic erosive gastritis, remission stage; Chronic duodenitis, remission stage; Hiatal hernia, grade I; Hepatomegaly; CKD stage III (GFR by CKD-EPI 50 ml/min/1.73m^2); Hypertensive nephropathy; DOA, deforming osteoarthritis of the shoulder and knee joints, radiographic changes grade I–II, PFS grade 1.

Each time the decompensated patient was admitted to our department, the use of glucocorticoids (GCs) led to significant improvement. The patient was also treated with diuretics, NSAIDs, GCs, and antibiotics.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

Результати лікування: при застосуванні ГКС відбувалося покращення стану хворого у вигляді регресії набряків та задишки, зменшення болю у суглобах та індуративного набряку шкіри гомілок та її гіперпігментації. Однак після кожного введення ГКС протягом декількох днів з'являлося «лущення» (рис. 5, 6), зменшувались прояви сіалоаденіту та асциту (рис. 7).

Як тільки з'явилася можливість проведення дослідження вмісту IgG4 його одразу було визначено. З отриманням результату вмісту IgG4 від 26.04.2024 р. – 443 мг/дл, (норма 3,0–201,0 мг/дл.) відповідно до класифікаційних критеріїв: враховано наявність критеріїв включення та відсутність критеріїв виключення,

Treatment Results: With the use of GCs, the patient's condition improved, evidenced by the regression of edema and dyspnea, reduction of joint pain, and indurative edema of the skin on the shins and its hyperpigmentation. However, after each GC administration, «peeling» appeared within a few days (Figures 5, 6), and the manifestations of sialoadenitis and ascites decreased (Figure 7).

Upon availability of a study to determine the patient's IgG4 level, it was immediately assessed. The result obtained on April 26, 2024, showed an IgG4 level of 443 mg/dl (normal range 3.0–201.0 mg/dl). According to the classification criteria, inclusion criteria were met, exclusion criteria were absent, and the score was

пораховано бали за відповідними доменами, отримано 54 бали (для встановлення діагнозу достатньо 20 балів) [4].

calculated according to the relevant domains, reaching 54 points (20 points are sufficient for diagnosis) [4].

Рис. 5. Індуративний набряк гомілок
Fig. 5. Indurative edema of the shins

Рис. 6. Індуративний набряк гомілок
Fig. 6. Indurative edema of the shins

Рис. 7. Сіалоаденіт, асцит
Fig. 7. Sialoadenitis, ascites

Діагноз: IgG4-асоційоване захворювання з ураженням дихальної системи (пневмоніт, плеврит (анамнестично), ХОЗЛ гр Д (II ст за GOLD, ЛН III ст.), гепатобіліарної системи (атрофічний цироз печінки в стадії декомпенсації, гепатомегалія, склерозуючий холангіт, фіброзуючий панкреатит), нирок (двобічний тубулоінтерстиціальний нефрит, ХХН III ст. (ШКФ за CKD-EPI 50 мл/хв./1,73м^2), гіпертензивна нефропатія), слинних та слізних залоз (паротит, захворювання підщелепних слинних залоз, синдром сухого ока – IV ступінь пригнічення сльозоутворення), серця (дифузний кардіосклероз, дилятація правого передсердя, правого шлуночка, гіпертрофія міокарда, переважно за рахунок лівого шлуночка, діастолічна дисфункція I типу, відносна недостатність трикуспідального клапана 2 ст., помірна легенева гіпертензія (СТЛА – 60 мм.рт.ст.), гіпертонічна хвороба II ст., 2 ст, ризик 3. СН IIБ зі збереженою ФВЛШ 55% (від 07.07.24), асцит), РЕС (лімфаденопатія позаочеревинного простору та малого таза), судин (синдром Рейно, «ранній склеродермічний паттерн»), шкіри (індуративний набряк шкіри гомілок, осередки гіперпігментації, псевдолімфома шкіри, гемосидероз), імунні порушення (Ig G4 від 26.04.2024 р. 443 мг/дл.), анемія змішаного ґенезу (54 бали).

Враховуючи вищезазначене, була проведена корекція терапії. Пацієнту призначено метилпреднізолон 32 мг на добу зі зниженням дози відповідно до діючих протоколів лікування ГК, при лікуванні відзначено погану переносимість мофетіла мікофенолата (синдром диспепсії), від застосування ритускимабу хворий відмовився у зв'язку із високою вартістю препарату. Повернувся до прийому плаквенілу по 200 мг 2 рази на день. Також продовжував терапію: ацетилсаліцилова кислота 100 мг 1 раз на день; бісопролол 5 мг на день, раміприл 2,5 мг на день, розувастатин 10 мг на день, пантопрозол 40 мг 1 раз на день за вимогою, спіронолактон 50 мг 1 раз на добу, ксарелто по 2,5 мг 2 рази на день, урсодезоксихолієва кислота по 500 мг на день (рис. 8).

Diagnosis: IgG4-associated vasculitis with respiratory system involvement (pneumonitis, pleuritis (anamnestically), COPD grade D (stage II per GOLD, grade III respiratory failure); Hepatobiliary system involvement (atrophic cirrhosis in the decompensation stage, hepatomegaly, sclerosing cholangitis, fibrosing pancreatitis); Kidney involvement (bilateral tubulointerstitial nephritis, CKD stage III (GFR by CKD-EPI 50 ml/min/1.73 m^2), hypertensive nephropathy); Salivary and lacrimal glands involvement (parotitis, submandibular gland disease, dry eye syndrome – grade IV tear production suppression); Heart involvement (diffuse cardiosclerosis, dilation of the right atrium and right ventricle, myocardial hypertrophy mainly of the left ventricle, type I diastolic dysfunction, relative insufficiency of the tricuspid valve grade 2, moderate pulmonary hypertension (PAP – 60 mm Hg), hypertension grade II, stage 2, risk 3, CHF IIB with preserved LVEF 55% (as of July 7, 2024), ascites); RES (retroperitoneal and pelvic lymphadenopathy); Vascular involvement (Raynaud's syndrome, «early scleroderma pattern»); Skin involvement (indurative edema of the shins, hyperpigmentation foci, skin pseudolymphoma, hemosiderosis); Immune disorders (IgG4 level on April 26, 2024: 443 mg/dl); Anemia of mixed origin (54 points).

Therapy Adjustment: The patient was prescribed methylprednisolone 32 mg daily with dose reduction according to current GC treatment protocols. Mycophenolate mofetil was poorly tolerated (dyspeptic syndrome). The patient refused rituximab due to the high cost. Returned to taking Plaquenil 200 mg twice a day. Continued therapy included: Acetylsalicylic acid 100 mg once daily; Bisoprolol 5 mg daily; Ramipril 2.5 mg daily; Rosuvastatin 10 mg daily; Pantoprazole 40 mg once daily as needed; Spironolactone 50 mg once daily; Xarelto 2.5 mg twice daily; Ursodeoxycholic acid 500 mg daily (Figure 8).

Unfortunately, multi-organ involvement caused by IgG4-RD was confirmed on autopsy: involving the submandibular salivary glands, liver (sclerosing cho-

Рис. 8. Пацієнт через 1,5 року від початку спостережень
Fig. 8. The patient 1.5 years after the start of observations

На жаль, поліорганне ураження, спричинене IgG4-АЗ, підтверджено на аутопсії: з ураженням підщелепних слинних залоз, печінки (склерозуючий холангіт, цироз), підшлункової залози (фіброзний панкреатит із загостренням), нирок (двобічний тубуло-інтерстиціальний нефрит), шкіри (фіброз дерми, проліферація дрібних судин). Перерахунок за відповідними доменами з урахуванням попередньої клінічної картини, результатів лабораторії та досліджень встановив 66 балів. Питання залучення серцево-судинної системи могло залишатися дискутабельним: за результатами розтину визначено концентричну гіпертрофію серця, переважно за рахунок лівого шлуночка та асцит. Однак, за даними літератури описані випадки перикардиту, пов'язаного із IgG4-АЗ [1] та перикардиту з ураженням міокарда, було оцінено як рестриктивну кардіоміопатію [19–20].

langitis, cirrhosis), pancreas (fibrous pancreatitis with exacerbation), kidneys (bilateral tubulointerstitial nephritis), skin (dermal fibrosis, small vessel proliferation). Recalculation according to the relevant domains, taking into account the previous clinical picture, laboratory results, and studies, established 66 points. The issue of cardiovascular system involvement could remain debatable: autopsy results determined concentric hypertrophy of the heart, mainly due to the left ventricle, and ascites. However, literature describes cases of pericarditis associated with IgG4-RD [1], and pericarditis with myocardial involvement evaluated as restrictive cardiomyopathy [19–20].

ВИСНОВКИ

Наш клінічний випадок демонструє поліорганне ураження при IgG4-АЗ (IgG4-пов'язані сіалоаденіт, пневмоніт, плеврит, лімфаденопатія, гепатомегалія, цироз, холецистит, гломерулонефрит, рестриктивна кардіоміопатія, індуративний набряк шкіри гомілок, осередки гіперпігментації, псевдолімфома) за відсутності специфічних змін з боку традиційних методів

CONCLUSIONS

Our clinical case demonstrates multi-organ involvement in IgG4-RD (IgG4-related sialadenitis, pneumonitis, pleuritis, lymphadenopathy, hepatomegaly, cirrhosis, cholecystitis, glomerulonephritis, restrictive cardiomyopathy, indurative edema of the skin of the shins, hyperpigmentation foci, pseudolymphoma) in the absence of specific changes from traditional examination methods.

обстеження. В нашому клінічному випадку було виявлено зміни переважно з боку серцево-судинної системи, функціональні показники якої поліпшувалися при застосуванні ГКС. Ключовими для встановлення діагнозу були результати підвищення рівня IgG4 у сироватці крові (імуногістохімічне дослідження пацієнт не зміг виконати). Прогресування захворювання, крім застосування ГКС, також включає симптоматичне лікування уражених органів та систем. На жаль, уникнути незворотних пошкоджень органів не вдалося, оскільки процес діагностики ускладнювався порушенням логістики в умовах воєнного часу та матеріальними можливостями пацієнта.

In our clinical case, changes were predominantly found in the cardiovascular system, whose functional indicators improved with glucocorticoid use. Key to establishing the diagnosis were the results of elevated IgG4 levels in serum (the patient could not perform immunohistochemical examination). Disease progression, besides glucocorticoid use, also included symptomatic treatment of the affected organs and systems. Unfortunately, irreversible organ damage could not be avoided due to diagnostic process complications caused by war-time logistical disruptions and the patient's financial constraints.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Яременко О.Б., Коляденко Д.І., Петелицька Л.Б. IgG4-залежне захворювання: сучасний стан проблеми й опис клінічного випадку. *Український ревматологічний журнал.* 2019. № 75(1). С. 10–19. URL: https://www.rheumatology.kiev.ua/article/11844/igg4-zalezhne-zaxvoryuvannya-suchasnij-stan-problemi-j-opis-klinichnogo-vipadku
2. Vikse J., Håland S., Norheim K.B. IgG4-related disease. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2017. Vol.137(16). 4 p. DOI: https://doi.org/10.4045/tidsskr.16.1099
3. Губергріц Н.Б. Коментарі до Європейських рекомендацій щодо IgG4-асоційованих гастроентерологічних захворювань. *Вісник клубу панкреатологів.* 2023. С. 39–43. DOI: https://doi.org/10.33149/vkp.2023.02.07
4. Егудина Е.Д., Триполка С.А. IgG4-асоційоване захворювання – terra incognita для ревматолога. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* 2021. № 1. С. 12–19. URL: https://kiai.com.ua/ru/archive/2021/1%28130%29/pages-12-19/igg-associirovannoe-zabolevanie-terra-incognita-dlya-revmatologa
5. Peng F., Zuckerman J.E. Kidney nontumor / medical renal. IgG4 related disease. Tubulointerstitial disease Immunologic. *PathologyOutlines*. 2022. URL: https://www.pathologyoutlines.com/topic/kidneyigg4related.html
6. Weerakkody Y., Jones J., Schultz K., et al. IgG4-related disease. *Radiopaedia.org*. DOI: https://doi.org/10.53347/rID-17290
7. Chelnis J., Wells J., Yen M.T. IgG4-related Orbital Inflammation. *Eyewiki.* 2014. URL: https://eyewiki.aao.org/IgG4-related_Orbital_Inflammation
8. Shreya S., Abhishek M., Shubham P. Immunoglobulin G4-related disease (IgG4-RD) manifestations in the head-and-neck: A narrative review with a focus on imaging. *Cancer Research, Statistics, and Treatment.* 2023. № 6(1). P. 68–73. DOI: https://doi.org/10.4103/crst.crst_82_22
9. Takeshima K., Li Y., Kakudo K., et al. Proposal of diagnostic criteria for IgG4-related thyroid disease. *Endocrine Journal.* 2021. Vol. 68, I. 1. P. 1–6. DOI: https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0557
10. Ревко О.П., Губергріц Н.Б. Гастроентерологічні вияви IgG4-асоційованої хвороби. Огляд літератури, клінічний випадок. *Сучасна гастроентерологія.* 2023. № 4(132). DOI: https://doi.org/10.30978/MG-2023-4-60
11. Рекалов Д.В., Данюк Ш.І. Клінічний випадок IgG4-асоційованого ураження легень та вибір оптимальної лікувальної стратегії. *Український ревматологічний журнал*. 2019. № 4(78). С. 37–42. DOI: 10.32471/rheumatology.2707-6970.78.12994
12. Chen L.Y.C., Mattman A., Seidman M.A., Carruthers M.N. IgG4-related disease: what a hematologist needs to know. *Haematologica*. 2019. Vol. 104, № 3. DOI: https://doi.org/10.3324/haematol.2018.205526
13. Sebastian A., Sebastian M. The variety of clinical presentations in IgG4-related disease in Rheumatology. *Rheumatology International.* URL: https://www.semanticscholar.org/paper/The-variety-of-clinical-presentations-in-disease-in-Sebastian-Sebastian/e9e329527e8c436826985dc06884b7b29d5346e2
14. Яременко О.Б., Коляденко Д.І. Ураження нирок при IgG4-залежному захворюванні. *Нирки*. 2021. № 10(2). С. 114–123. DOI: https://doi.org/10.22141/2307-1257.10.2.2021.234332
15. Шпекторовский І.Я., Моисеенко Н.Н. Идиопатический ретроперитонеальный фиброз (болезнь Ормонда). *Новини і перспективи медичної науки: зб. мат. XVII конф. студ. та мол. учених*. Дніпропетровськ, 2017. С. 128–129. URL: https://repo.dma.dp.ua/3552/1/Dnipro-2017-p128-129.pdf
16. Carballo I., González-Quintela A., Sopeña B., et al. Immunoglobulin G4–Related Disease: What an Allergist Should Know. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2021. Vol. 31(3). P. 212–227. DOI: https://doi.org/10.18176/jiaci.0633
17. Oh J.W., Rha S.E., Choi M.H., et al. Immunoglobulin G4–related Disease of the Genitourinary System: Spectrum of Imaging Findings and Clinical-Pathologic Features. *RadioGraphics.* 2020. DOI: https://doi.org/10.1148/rg.2020200043

REFERENCES

1. Yaremenko OB, Kolyadenko DI, Petelytska LB. IgG4-dependent disease: current state of the problem and description of a clinical case. *Ukrainian Journal of Rheumatology.* 2019;75(1):10–9. (In Ukrainian). URL: https://www.rheumatology.kiev.ua/article/11844/igg4-zalezhne-zaxvoryuvannya-suchasnij-stan-problemi-j-opis-klinichnogo-vipadku
2. Vikse J, Håland S, Norheim KB. IgG4-related disease. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2017;137(16);4. DOI: https://doi.org/10.4045/tidsskr.16.1099
3. Gubergritz NB. Comments on the European recommendations on IgG4-associated gastroenterological diseases. *Bulletin of the Pancreatology Club.* 2023;39–43. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.33149/vkp.2023.02.07
4. Egudina ED, Trypolka SA. IgG4-associated disease – terra incognita for a rheumatologist. *Clinical immunology. Allergology. Infectology.* 2021;1:12–9. (In Ukrainian).URL: https://kiai.com.ua/ru/archive/2021/1%28130%29/pages-12-19/igg-associirovannoe-zabolevanie-terra-incognita-dlya-revmatologa
5. Peng F, Zuckerman JE. Kidney nontumor / medical renal. IgG4 related disease. Tubulointerstitial disease Immunologic. *PathologyOutlines.* 2022. URL: https://www.pathologyoutlines.com/topic/kidneyigg4related.html
6. Weerakkody Y, Jones J, Schultz K., et al. IgG4-related disease. *Radiopaedia.org.* DOI: https://doi.org/10.53347/rID-17290
7. Chelnis J, Wells J, Yen MT. IgG4-related Orbital Inflammation. *Eyewiki.* 2014. URL: https://eyewiki.aao.org/IgG4-related_Orbital_Inflammation
8. Shreya S, Abhishek M, Shubham P. Immunoglobulin G4-related disease (IgG4-RD) manifestations in the head-and-neck: A narrative review with a focus on imaging. *Cancer Research, Statistics, and Treatment.* 2023;6(1):68–73. DOI: https://doi.org/10.4103/crst.crst_82_22
9. Takeshima K, Li Y, Kakudo K, et al. Proposal of diagnostic criteria for IgG4-related thyroid disease. *Endocrine Journal.* 2021;68(1):1–6. DOI: https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0557
10. Revko OP, Gubergrits NB. Gastroenterological manifestations of IgG4-associated disease. Literature review, clinical case. *Modern gastroenterology.* 2023;4(132). (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.30978/MG-2023-4-60
11. Rekalov DV, Danyuk SI. Clinical case of IgG4-associated lung damage and selection of the optimal treatment strategy. *Ukrainian Journal of Rheumatology.* 2019;4(78):37–42. (In Ukrainian). DOI: 10.32471/rheumatology.2707-6970.78.12994
12. Chen LYC, Mattman A, Seidman MA, Carruthers MN. IgG4-related disease: what a hematologist needs to know. *Haematologica*. 2019;104(3). DOI: https://doi.org/10.3324/haematol.2018.205526
13. Sebastian A, Sebastian M. The variety of clinical presentations in IgG4-related disease in Rheumatology. *Rheumatology International.* URL: https://www.semanticscholar.org/paper/The-variety-of-clinical-presentations-in-disease-in-Sebastian-Sebastian/e9e329527e8c436826985dc06884b7b29d5346e2
14. Yaremenko OB, Kolyadenko DI. Kidney damage in IgG4-dependent disease. *Kidneys*. 2021;10(2):114–23. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2307-1257.10.2.2021.234332
15. Shpektorovsky IYa, Moiseenko NN. Idiopathic retroperitoneal fibrosis (Ormond's disease). *News and prospects of medical science: collection of materials of the XVII Conference of Students and Young Scientists.* Dnipropetrovsk, 2017:128–9. (In Ukrainian). URL: https://repo.dma.dp.ua/3552/1/Dnipro-2017-p128-129.pdf
16. Carballo I, González-Quintela A, Sopeña B, et al. Immunoglobulin G4–Related Disease: What an Allergist Should Know. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2021;31(3):212–27. DOI: https://doi.org/10.18176/jiaci.0633
17. Oh JW, Rha SE, Choi MH, et al. Immunoglobulin G4–related Disease of the Genitourinary System: Spectrum of Imaging Findings and Clinical-Pathologic Features. *RadioGraphics.* 2020. DOI: https://doi.org/10.1148/rg.2020200043

18. Pomponio G., Olivari D. Sustained clinical response after single course of rituximab as first-line monotherapy in adult-onset asthma and periocular xanthogranulomas syndrome associated with IgG4-related disease. *Medicine*. 2018. URL: https://www.semanticscholar.org/paper/Sustained-clinical-response-after-single-course-of-Pomponio-Olivari/512e02816545564df7d9b8db19c1bceddffddfda
19. Houshmand G. IgG4-Related Disease with Diffuse Myopericardial Involvement-Value of CMR: A Case Report and Literature Review of Cardiac Involvement. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2024. Vol. 24(1). 200 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s12872-024-03874-3
20. Ratwatte S. Cardiac manifestations of IgG4-related disease: a case series. *European Heart Journal – Case Reports*. 2022. Vol. 6(4). DOI: https://doi.org/10.1093/ehjcr/ytac153

18. Pomponio G, Olivari D. Sustained clinical response after single course of rituximab as first-line monotherapy in adult-onset asthma and periocular xanthogranulomas syndrome associated with IgG4-related disease. *Medicine*. 2018. URL: https://www.semanticscholar.org/paper/Sustained-clinical-response-after-single-course-of-Pomponio-Olivari/512e02816545564df7d9b8db19c1bceddffddfda
19. Houshmand G. IgG4-Related Disease with Diffuse Myopericardial Involvement-Value of CMR: A Case Report and Literature Review of Cardiac Involvement. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2024;24(1):200. DOI: https://doi.org/10.1186/s12872-024-03874-3
20. Ratwatte S. Cardiac manifestations of IgG4-related disease: a case series. *European Heart Journal – Case Reports*. 2022;6(4). DOI: https://doi.org/10.1093/ehjcr/ytac153

Перспективи подальших досліджень

З початку публікації перших випадків Ig G4-Аз були отримані суттєві досягнення у вивченні клінічної картини захворювання, епідеміології, патогенезу та лікування. Але залишаються важливими питання своєчасної діагностики та обізнаності щодо цієї нозології лікарями різних спеціальностей, продовження вивчення патогенезу для визначення нових цілей для терапії, поліпшення діагностичних підходів та зменшення вартості обстежень, створення реєстру пацієнтів із цим рідкісним захворюванням та можливість їхнього спілкування для подолання невизначеності через наявність хвороби.

Prospects for further research

Since the publication of the first cases of IgG4-RD, significant progress has been made in studying the clinical presentation of the disease, its epidemiology, pathogenesis, and treatment. However, important issues remain, such as timely diagnosis and raising awareness of this condition among physicians of various specialties. Continued research into the pathogenesis is needed to identify new therapeutic targets, improve diagnostic approaches, reduce examination costs, establish a registry of patients with this rare disease, and provide opportunities for patient communication to address uncertainties associated with the disease, along with support and education.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з будь-якими організаціями або приватними особами.

Conflict of interest

The author of the manuscript declares no actual or potential conflicts of interest with any organizations or individuals.

Інформація про фінансування

Це дослідження не фінансувалося.

Funding information

This study was not funded.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Лук'яненко Тетяна Василівна – кандидат медичних наук, лікар ревматолог Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна лікарня № 13», просп. Аерокосмічний, буд. 137, м. Харків, Україна, 61124; старший науковий співробітник Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України»; вул. Григорія Сковороди, буд. 12/14, м. Харків, Україна, 61057;
e-mail: lukyantv@ukr.net
моб.: +38 (096) 876-96-45
Внесок автора: *формулювання мети роботи, підбір літературних джерел за темою роботи, концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, формулювання висновків, редагування статті, остаточне затвердження статті.*

Посохова Анна Ігорівна – кандидат медичних наук, завідувачка терапевтичного відділення Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна багатопрофільна лікарня № 25»; просп. Олександрівський, буд. 122, м. Харків, Україна, 61115;
e-mail: anna84posokhova@gmail.com
моб.: +38 (066) 374-68-06
Внесок автора: *формулювання мети роботи, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, концепція та дизайн дослідження, остаточне затвердження статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Lukianenko Tetiana Vasilievna – Candidate of Medical Sciences, rheumatologist Municipal non-commercial institution «Kharkiv city clinical hospital №13» of Kharkiv regional council, 137 Aerokosmichnyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61124; senior staff member of the «II Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 12/14 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61057;
e-mail: lukyantv@ukr.net
tel.: +38 (096) 876-96-45
Author's contribution: *formulation of the purpose of the work, selection of literary sources on the topic of the work, concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation of the data, writing of the article, formulation of conclusions, editing of the article, final approval of the article.*

Posokhova Anna Igorivna – Candidate of Medical Sciences, Head of the therapeutic Department of the communal non-profit enterprise «City Multidisciplinary Hospital No. 25» of the Kharkiv City Council; 122 Oleksandrivskyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61115;
e-mail: anna84posokhova@gmail.com
tel.: +38 (066) 374-68-06
Author's contribution: *formulation of the purpose of the work, analysis of the obtained data and their statistical processing, concept and design of the study, final approval of the article.*

Біляєва Вікторія Станіславівна – лікар терапевт терапевтичного відділення Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна багатопрофільна лікарня № 25»; просп. Олександрівський, буд. 122, м. Харків, Україна, 61115;
e-mail: Sevcukv04@gmail.com
моб.: +38 (066) 314-78-41
Внесок автора: *спостереження та лікування пацієнта, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті.*

Кордюмова Анастасія Костянтинівна – лікар терапевт терапевтичного відділення Комунального некомерційного підприємства «Берестинська центральна районна лікарня», вул. Шиндлера, буд. 87, м. Берестин, Україна, 63304;
e-mail: anastasiakord@ukr.net
моб.: +38 (095) 111-73-87
Внесок автора: *спостереження та лікування пацієнта, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті.*

Воронкова Олена Андріївна – лікар терапевт терапевтичного відділення Комунального некомерційного підприємства Харківської міської ради «Міська клінічна лікарня № 1»; вул. Сохора, буд. 5А, м. Харків, Україна, 61080;
e-mail: lenycya0497@gmail.com
моб.: +38 (097) 317-52-72
Внесок автора: *спостереження та лікування пацієнта, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті.*

Biliaieva Victoria Stanislavivna – Physician therapist of the therapeutic Department of the communal non-profit enterprise «City Multidisciplinary Hospital No. 25» of the Kharkiv City Council; 122 Oleksandrivskyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61115;
e-mail: Sevcukv04@gmail.com
tel.: +38 (066) 314-78-41
Author's contribution*: patient observation and treatment, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing.*

Kordiumova Anastasia Konstantinovna – Physician therapist of the therapeutic Department of the Communal non-profit enterprise «Berestynska Central District Hospital», 87 Schindler Str., Berestyn, Ukraine, 63304;
e-mail: anastasiakord@ukr.net
tel.: +38 (095) 111-73-87
Author's contribution*: patient observation and treatment, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing.*

Voronkova Olena Andriivna – Physician therapist of the therapeutic Department of the Communal non-profit enterprise «City Clinical Hospital 1» of the Kharkiv City Council, Kharkiv; 5A Sokhora Str., Kharkiv, Ukraine, 61080;
e-mail: lenycya0497@gmail.com
tel.: +38 (097) 317-52-72
Author's contribution: *patient observation and treatment, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 03.09.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 07.11.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 22.11.2024	Опубліковано *Published* 29.12.2024

ISSN 3083-5615 (Online)

ПОКАЖЧИК АВТОРІВ VII ТОМУ КАРАЗІНСЬКИЙ ІМУНОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ

Біляєва В. С. 2, 212
Богмат Л.Ф. 1, 72
Віннікова Н.В. 1, 8
Волобуєв Д.В. 2, 149
Волобуєва О. В. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 111; 2, 192
Воронкіна І. А. 2, 149
Воронкова О. А. 2, 212
Гладких Ф. В. 1, 84, 2, 202
Головко Т.О. 1, 72
Голуб О. І. 1, 54; 2, 111; 2, 133; 2, 149
Грек І.І. 1,8
Дорош Д.М. 1, 8
Захарченко В.С. 1, 98
Зац О. С. 2, 159
Козаченко А.В. 2, 175
Козлов О.П. 1, 8
Кордюмова А. К. 2, 212
Кузьміна І.Ю. 1, 44
Кузьміна О.О. 1, 44
Кушнір В.Б. 1, 8
Летяго Г. В. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 111; 2, 133; 2, 149
Лук'яненко Т. В. 2, 212
Лядова Т. І. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 1, 63, 2, 202
Матвєєнко М.С. 1, 84
Монакова О.С. 1, 98
Муратов Г.Р. 2, 192
Огнівенко О.В. 1, 8, 2, 183
Олексюк О.Б. 1, 84
Отченаш Н.М. 2, 122
Павлікова К. В. 1, 8; 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 133; 2, 149
Павлова О.С. 1, 72
Панов С. І. 2, 159
Попов М.М. 1, 18; 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 183
Попова А.М. 1, 63
Посохова А. І. 2, 212
Потьомкін М.Ю. 2, 122
Ржепішевська О. 2, 192
Савво О.М. 2, 192
Самусенко Д.С. 1, 18; 2, 183
Солдатенко І. В. 2, 111
Фадєєва А.О. 1, 72
Харківська Д.О. 1, 98
Цівенко О.І. 2, 175
Чернуський В. Г. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 111; 2, 133; 2, 149
Шевченко Н.С. 1, 72
Шерстюк С. О. 2, 159
Шморгун В.В. 2, 175

 ISSN 3083-5615 (Online)

CONTENTS OF THE AUTHORS OF THE VII VOLUME KARAZIN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

Biliaieva V.S. 2, 212
Bogmat L.F. 1, 72
Chernusky V.H. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 111; 2, 133; 2, 149
Dorosh D.M. 1, 8
Fadieieva A.O. 1, 72
Golub O.I. 1, 54; 2, 111; 2, 133; 2, 149
Hladkykh F.V. 1, 74, 2, 202
Holovko T.O. 1, 72
Hrek I.I. 1, 8
Kharkivska D.O. 1, 98
Kordiumova A.K. 2, 212
Kozachenko A.V. 2, 175
Kozlov O.P. 1, 8
Kushnir V.B. 1, 8
Kuzmina I.Yu. 1, 44
Kuzmina O.O. 1, 44
Letiaho G.V. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 111; 2, 133; 2, 149
Liadova T.I. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 1, 63; 2, 202
Lukianenko T.V. 2, 212
Matvieienko M.S. 1, 74
Monakova O.S. 1, 98
Muratov G.R. 2, 192
Ohnivenko O.V. 1, 8; 2, 183
Oleksiuk O.V. 1, 74
Otchenash N.M. 2, 122
Panov S.I. 2, 159
Pavlikova K.V. 1, 8; 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 133; 2, 149
Pavlova O.S. 1, 72
Popov M.M. 1, 18; 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 183
Popova A.M. 1, 63
Posokhova A.I. 2, 212
Potomkin M.Y. 2, 122
Rzhepishevska O. 2, 192
Samusenko D.S. 1, 18; 2, 183
Savvo O.M. 2, 192
Sherstiuk S.O. 2, 159
Shevchenko N.S. 1, 72
Shmorhun V.V. 2, 175
Soldatenko I.V. 2, 111
Tsivenko O.I. 2, 175
Vinnikova N.V. 1, 8
Volobuieva O.V. 1, 25; 1, 35; 1, 54; 2, 111; 2, 192
Volobuiev D.V. 2, 149
Voronkina I.A. 2, 149
Voronkova O.A. 2, 212
Zakharchenko V.S. 1, 98
Zats O.S. 2, 159

ISSN 3083-5615 (Online)

РЕЦЕНЗЕНТИ

Попов М.М
Чернуський В.Г.
Мартиненко О.В.
Гладких Ф.В.
Матвєєнко М.С.
Лядова Т.І.
Коморовський Р.Р.
Раймонді Д.
Чиж М.О.
Яблучанський А.М.
Бабаджан В.Д.
Кот Ю.Г.
Козлова Т.В.
Красносельський М.В.

REVIEWS

Liadova T.I.
Popov M.M.
Matvieienko M.S.
Chernusky V.H.
Martinenko O.V.
Hladkykh F.V.
Komorovsky R.R.
Raimondi G.
Chyzh M.O.
Yabluchanskiy A.M.
Babadzhan V.D.
Kot Yu.H.
Kozlova T.V.
Krasnoselskyi M.V.

Науково-практичне видання

КАРАЗІНСЬКИЙ ІМУНОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ

ТОМ VII
2(14) | 2024

Відповідальний за випуск	*М.С. Матвєєнко*
Редактор випуску	*Ф.В. Гладких*
Технічний редактор	*О.М. Гребенюк*
Літературні редактори	*Т.Г. Золотарьова* *Т.І. Кобзар* *Н.М. Волошина*
Комп'ютерна верстка	*Л.Ю. Свєтайло*

Макет виготовлено
на медичному факультеті
Харківського національного університету
імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України,
майдан Свободи, буд. 4,
м. Харків, Україна, 61022,
e-mail: apmm.meddep@karazin.ua

Видавець і виготовлювач
Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022.
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготовлювачів
і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК No 3367 від 13.01.2009 р.

Research and practice edition

KARAZIN JOURNAL OF IMMUNOLOGY

VOLUME VII
2(14) | 2024

Responsible for Edition	*M.S. Matvieienko*
Issue Editor	*F.V. Hladkykh*
Technical Editor	*O.M. Hrebeniuk*
Literary Editors	*T.G. Zolotarova* *T.I. Kobzar* *N.M. Voloshyna*
Computer layout	*L.Yu. Svietailo*

The layout is made
at the School of Medicine of
V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine,
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022,
e-mail: apmm.meddep@karazin.ua

Publisher and Manufacturer
V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine

4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022.
Certificate of registration
in the State Register of publishers,
manufacturers and distributors of printed products
ДК No 3367, 13/01/2009.