ISSN 2313-6693 (Print)
ISSN 2313-2396 (Online)
УДК 577.27+616

KARAZIN UNIVERSITY
CLASSICS AHEAD OF TIME

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна

Серія **МЕДИЦИНА**

The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University

Series
MEDICINE

No. 3(50)
Том 32 (2024)
Volume 32 (2024)

КАРАЗІНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КЛАСИКА, ЩО ВИПЕРЕДЖАЄ ЧАС

ТОМ XXXII
3(50) | 2024

ISSN 2313-6693 (Print)
ISSN 2313-2396 (Online)

УДК 577.27+616

Унікальний префікс DOI видавництва журналу: 10.26565

Затверджено до друку Вченою радою Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (протокол №20 від 30.09.2024 р.)

Ідентифікатор медіа у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R30-04449 *(Рішення № 1538 від 09.05.2024 р. Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення. Протокол № 15)*

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції серія 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: ukrmedsci@gmail.com,
journal.medicine@karazin.ua

Науково-практичне видання

ВІСНИК Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія МЕДИЦИНА

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

Засновник і видавець Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України
Засновано 1992 року
Періодичність виходу – 4 рази на рік

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Входить до Переліку наукових друкованих фахових видань України (категорія «Б»), у яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт в галузі знань «22 – Охорона здоров'я» (Додаток 4 до наказу Міністерства освіти і науки України від 02.07.2020 р. № 886) за спеціальностями: «222 – Медицина»

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

The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series MEDICINE

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

Founder and publisher V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine
Established in 1992
Published 4 times a year

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE

Listed in the scientific printed
professional editions of Ukraine (category B)
which can publish theses results in «22 – Healthcare» field
(Annex 4 to Order No 886
of Ministry of Education and Science of Ukraine, 02.07.2020)
on the specialties: «222 – Medicine»

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 XXXII
3(50) | 2024

ISSN 2313-6693 (Print)
ISSN 2313-2396 (Online)

UDC 577.27+616

DOI unique prefix of the Journal publishing house: 10.26565

Approved for publication
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 20 of 30/09/2024)

Media identifier
in the Register of the field
of Media Entities: R30-04449
(Decision № 1538 dated 9/05/2024
of the National Council
of Television and
Radio Broadcasting of Ukraine,
Protocol № 15)

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

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

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50)
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50))

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
EDITORIAL BOARD

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

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)

ЗАСТУПНИКИ ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА

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)

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 за спеціальністю «Медицина», 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

Потейко Петро Іванович – кандидат медичних наук, доцент, виконуючий обов'язки завідувача кафедри внутрішніх хвороб і сімейної медицини Навчально-наукового медичного інституту Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» 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)

CHIEF EDITOR

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)

DEPUTY 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)

Tsivenko Oleksij 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, 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

Poteiko Petro Ivanovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Acting 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)

Tykhonova Tetiana Mykhaylivna – 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)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Авдосьєв Юрій Володимирович – доктор медичних наук, професор, завідувач рентгенохірургічного відділення Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України» (м. Харків, Україна)

Avdosyev Yuriy Volodymyrovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of Interventional Radiology State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Urgent Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine, (Kharkiv, Ukraine)

Альперт Джозеф – доктор медичних наук, професор медицини, професор клінічних трансляційних наук Аризонського університету (м. Темпе, Фенікс, Сполучені Штати Америки)

Alpert Joseph Stephen – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of Clinical Translational Sciences, University of Arizona College of Medicine (Tempe, Phoenix, United States of America)

Вольфганг Арнольд – доктор медичних наук, професор, Університет Віттен Хердеке (м. Віттен, Німеччина)

Wolfgang Arnold – Doctor of Medicine, Full Professor, Witten/Herdecke University (Witten, Germany)

Горшунська Мар'яна Юріївна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Gorshunska Maryana Yuryivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor 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)

Джафферані Мохаммад – доктор медичних наук, професор кафедри психіатрії та соціальних наук, Центральний Мічиганський університет (м. Мічиган, Сполучені Штати Америки)

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

Зупанець Ігор Альбертович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України (м. Харків, Україна)

Zupanets Igor Albertovych – Doctor of Medicine, Full Professor, Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy of National University of Pharmacy (Kharkiv, Ukraine)

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)

Kot Yurii Hrihorovych – 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)

Ксав'єр Пастор Дюран – доктор медичних наук, професор, професор хірургії та медично-хірургічних спеціальностей. Медична інформатика. Клінічна лікарня Університету Барселони (м. Барселона, Іспанія)

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

Купновицька Ірина Григорівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Івано-Франківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (м. Івано-Франківськ, Україна)

Kupnovytska Iryna Hryhorivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy of Ivano-Frankivsk National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (Ivano-Frankivsk, Ukraine)

Лінський Ігор Володимирович – доктор медичних наук, професор, директор Інституту, завідувач відділу ургентної психіатрії та наркології Державної установи «Інститут неврології, психіатрії та наркології Національної академії медичних наук України» (м. Харків, Україна)

Linskyi Igor Volodymyrovych – Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Director of the Institute, Head of the Department of Urgent Psychiatry and Narcology of State Institution «Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine)

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)

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)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Міщенко Тамара Сергіївна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри неврології, психіатрії, наркології та медичної психології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (м. Харків, Україна)

Mishchenko Tamara Serhiivna – Doctor of Medicine, Full Professor, Head of the Department of Neurology, Psychiatry, Narcology and Medical Psychology of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Kharkiv, Ukraine)

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)

Popov Mykola Mykolaiovych – 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)

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)

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)

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

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

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

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)

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

Шалімова Анна Сергіївна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини Медичного університету Гданська (м. Гданськ, Польща)

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

РЕДАКЦІЙНА РАДА
EDITORIAL COUNCIL MEMBERS

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)

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)

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 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 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

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)

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)

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50)
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50))

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ЗМІСТ

CONTENTS

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гладких Ф.В., Лядова Т.І.
Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту — 275

Крутенко Н.В., Шевченко Н.С., Зімницька Т.В., Волошин К.В., Тараненко О.Б., Павлова О.С., Кварацхелія Т.М.
Аналіз результатів холтерівського моніторування у підлітків з хронічною запальною патологією верхніх відділів шлунково-кишкового тракту — 290

Лахно І.В.
Рівень ускладнень вагітності та пологів у мешканок прифронтового м. Харкова — 306

Бєлочкіна І.В., Чиж М.О., Слета І.В., Шканд Т.В.
Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда — 314

Сопель О.М., Денефіль О.В.
Оцінка харчування дітей раннього віку в Одеському районі — 339

Цівенко О.І., Бичков С.О., Гриньов Р.М., Душик Л.М.
Цілеспрямоване ультразвукове дослідження огранів черевної порожнини у пацієнтів з жовчно-кам'яною та з супутньою злуковою хворобами як метод попередження інтраопераційних ускладнень при виконанні лапароскопічної холецистектомії — 346

Тихонова Т.М., Лисенко Н.В.
Циркадний ритм артеріального тиску та його взаємозв'язки з короткостроковою варіабельністю — 358

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Шевченко Є.В., Гладких Ф.В., Матвєєнко М.С.
Кріомедичні біотехнології як ключ до ефективної децелюляризації при створенні скафолдів для судинної трансплантації — 366

Тарасов Є.В., Куртова М.М., Кольцова І.Г., Шевчук Г.Ю., Грузевський О.А.
Українська адаптація номенклатури міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних (антинуклеарних) антитіл — 387

Гладких Ф.В.
Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології — 414

БЕЗПЕРЕРВНА МЕДИЧНА ОСВІТА ТА ОРГАНІЗАЦІЯ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

Камінська Т.М., Олексюк О.Б., Коморовський Р.Р., Гладких Ф.В.
Роль охорони здоров'я України на світовому ринку медичних послуг: чинники зростання в умовах глобалізації — 440

ORIGINAL RESEARCH

Hladkykh F.V., Liadova T.I.
Characteristics of the hepatotropic activity of cell-free cryopreserved biological agents in the model of autoimmune hepatitis — 275

Krutenko N.V., Shevchenko N.S., Zimnytska T.V., Voloshyn K.V., Taranenko O.B., Pavlova O.S., Kvaratskheliya T.M.
Holter monitoring results in adolescents with chronic inflammatory pathology of the upper gastrointestinal tract — 290

Lakhno I.V.
The level of pregnancy and childbirth complications among the residents of front-line city of Kharkiv — 306

Belochkina I.V., Chyzh M.O., Sleta I.V., Shkand T.V.
Impact of extract of cryopreserved pig heart fragments in alginate hydrogel on electrophysiological indicators of rat hearts with myocardial cryonecrosis — 314

Sopel O.M., Denefil O.V.
Evaluation of nutrition of young children in Odesa district — 339

Tsivenko O.I., Bychkov S.O., Hrynyov R.M., Dushyk L.M.
Targeted ultrasound examination of the edges of the abdominal cavity in patients with gallstones and concomitant bile duct diseases as a method of preventing intraoperative complications during laparoscopic cholecystectomy — 346

Tykhonova T.M., Lysenko N.V.
Circadian rhythm of blood pressure and its correlations with short-term variability — 358

LITERATURE REVIEW

Shevchenko Ye.V., Hladkykh F.V., Matvieienko M.S.
Cryomedical biotechnologies as a key to effective decellularization in the creation of scaffolds for vascular transplantation — 366

Tarasov Ye.V., Kurtova M.M., Koltsova I.H., Shevchuk A.Yu., Gruzevskiy O.A.
Ukrainian adaptation of the nomenclature of the International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns — 387

Hladkykh F.V.
Freund's adjuvant is a classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology — 414

CONTINUING MEDICAL EDUCATION AND HEALTH CARE ORGANIZATION

Kaminska T.M., Oleksiuk O.B., Komorovsky R.R., Hladkykh F.V.
The role of Ukrainian healthcare in the global market of medical services: growth factors in the context of globalization — 440

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 275–289
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):275–289

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-01
УДК: 632.938+616.36-002+615.832.98+615.451.16

Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту

Гладких Ф.В.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Лядова Т.І.[1], https://orcid.org/0000-0002-5892-2599, e-mail: t.lyadova@karazin.ua

[1]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Characteristics of the hepatotropic activity of cell-free cryopreserved biological agents in the model of autoimmune hepatitis

Hladkykh F.V.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Liadova T.I.[1], https://orcid.org/0000-0002-5892-2599, e-mail: t.lyadova@karazin.ua

[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:

аутоімунний гепатит, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, пігментний обмін, мезенхімальні стовбурові клітини, кондиціоноване середовище, кріоекстракт плаценти.

Для кореспонденції:

Гладких Федір Володимирович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені 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

© *Гладких Ф.В., Лядова Т І., 2024*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Аутоімунний гепатит (АІГ) є тяжким прогресуючим та рецидивуючим імуноопосередкованим запальним захворюванням печінки з динамічними та досить неоднорідними проявами, яке може призвести до цирозу та печінкової недостатності. Щорічна світова захворюваність та поширеність АІГ становлять 1,4 та 17,4 на 100 тис. осіб відповідно. Хоча використання кортикостероїдів є загальновизнаним підходом до лікування хворих на АІГ, окремі пацієнти погано реагують на таке лікування, а деякі хворі можуть зіткнутися з серйозними побічними ефектами або рецидивом після припинення використання стероїдів. З цих причин є актуальним пошук нових підходів до лікування хворих на АІГ.
Мета роботи – охарактеризувати гепатотропну активність безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів (БКБЗ) – кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК), кріоекстракту плаценти (КЕП) та кріоекстракту селезінки (КЕС)) за показниками пігментного обміну та антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу на моделі аутоімунного гепатиту у щурів.
Матеріали та методи. Дослідження ефективності БКБЗ при АІГ проведені на 42 шурах-самцях масою 200–220 г. АІГ у щурів моделювали шляхом введення гепатотропної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванту Фрейнда та антигену, отриманого з гомогенату алогенної печінки. Вміст реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП) визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. Активність каталази визначали спектрофотометрично за методом Королюк М.А. та співавт. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали спектрофотометрично за методом Чевари С. та співавт. Концентрацію білірубіну визначали спектрофотометрично за реакцією діазофенілсульфонової кислоти з прямим білірубіном.
Результати та їх обговорення. Оцінка стану пігментного обміну показала, що зростання загального білірубіну у тварин групи контролю відбувалось переважно за рахунок пулу прямого білірубіну – його концентрація статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла на 240,0% та становила 17,0 ммоль/л, в той час як вміст непрямого білірубіну зріс ($p < 0,001$) лише на 98,3% відносно показників інтактних щурів. Серед досліджуваних БКБЗ введення КЕС супроводжувалось зіставлюваною з силібором здатністю нормалізувати рівень загального білірубіну у щурів з АІГ. Рівень вказаного показника статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 40,2% та становив 20,0 ммоль/л. Активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та виснаження антиоксидантної системи (АОС) призвели до статистично вірогідного зниження ($p = 0,002$) інтегрального показника ПОЛ-АОС – антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) на 71,0% відносно показників інтактних щурів.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

За здатністю відновлювати активність каталази у тканинах печінки на тлі АІГ у щурів всі досліджувані БКБЗ поступались референс-препарату силібору.
Висновки. На тлі розвитку АІГ у щурів відмічалось зростання (p < 0,001) рівня загального білірубіну на 148,9%, зростання вмісту ТБК-РП (p < 0,001) на 172,5%, зниження (p = 0,004) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% (p = 0,4) активності каталази. За здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (52,6%; p < 0,001) > КЕП (49,6%; p < 0,001) > КЕС (40,2%; p < 0,001). За здатністю відновлювати баланс в системі ПОЛ-АОС досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності: КС-МСК (201,4%; p = 0,005) > КЕП (85,3%; p = 0,002) > КЕС (57,5%; p = 0,1).

Для цитування:

Гладких Ф.В., Лядова Т.І. Характеристика гепатотропної активності безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі аутоімунного гепатиту. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 275–289. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-01

Key words:

autoimmune hepatitis, lipid peroxidation, antioxidant system, pigment metabolism, mesenchymal stem cells, conditioned medium, cryoextract of placenta.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine;
82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Hladkykh F.V., Liadova T.I., 2024*

ABSTRACT

Background. Autoimmune hepatitis (AIH) is a severe acute or chronic progressive and relapsing immune-mediated inflammatory liver disease with dynamic and heterogeneous manifestations, potentially leading to cirrhosis and liver failure. The annual global incidence and prevalence of AIH are 1.4 and 17.4 per 100,000 individuals, respectively. Although corticosteroids are a common treatment for AIH, some patients poorly respond to this therapy, and others may experience serious side effects or relapse after discontinuing steroids. Therefore, new treatment methods are needed.
Purpose – to characterize the hepatotropic activity of cell-free cryopreserved biological agents – ACBAs (MSC conditioned medium (MSC-MSC), placenta cryoextract (CEP) and spleen cryoextract (CES)) according to indicators of pigment metabolism and antioxidant-prooxidant homeostasis in the model of autoimmune hepatitis in rats.
Materials and Methods. The effectiveness of acellular cryopreserved biological agents (ACBAs) in AIH was investigated in 42 male rats weighing 200–220 g. AIH was modeled by administering a hepatotropic antigenic mixture consisting of Freund's complete adjuvant and an antigen solution derived from allogeneic liver homogenate. The content of reactants with thiobarbituric acid (TBA-RP) was determined spectrophotometrically using the method by Asakawa T. et al. Catalase activity was measured spectrophotometrically according to the method by Korolyuk M.A. et al. Superoxide dismutase (SOD) activity was assessed spectrophotometrically using the method by Chevari S. et al. Bilirubin concentrations (total, direct, and indirect) were determined spectrophotometrically through the diazophenylsulfonic acid reaction with direct bilirubin.
Results. Assessment of pigment metabolism indicated that the increase in total bilirubin in the control group animals was primarily due to the direct bilirubin pool, with its concentration increasing statistically significantly (p < 0.001) by 240.0% to 17.0 mmol/L, while indirect bilirubin levels increased (p < 0.001) by only 98.3% compared to intact rats. Among the studied ACBAs, the administration of CES demonstrated a comparable ability to normalize total bilirubin levels in rats with AIH, showing a statistically significant decrease (p < 0.001) of 40.2% to 20.0 mmol/L. Activation of the processes of lipid peroxidation (LPO) and depletion of the antioxidant system (AOS) led to a statistically significant decrease (p = 0.002) of the integral indicator of LPO-AOS – the antioxidant-prooxidant index (API) by 71.0% compared to the indicators of intact rats. In terms of the ability to restore catalase activity in liver tissues against the background of AIH in rats, all studied BKBZ were inferior to the reference drug sylibor.
Conclusions. During the development of AIH in rats, there was an increase (p < 0.001) in total bilirubin levels by 148.9%, an increase in TBA-RP content (p < 0.001) by 172.5%, a decrease (p = 0.004) in SOD activity by 40.0%, and a decrease of 20.0% (p = 0.4) in catalase activity. Based on the ability to normalize pigment metabolism in AIH, the studied ACBAs can be arranged in the following order: MSC-CM (52.6%; p < 0.001) > CEP (49.6%; p < 0.001) > CES (40.2%; p < 0.001). In terms of restoring balance in the LPO-AOS system, the studied ACBAs can be arranged as follows: MSC-CM (201.4%; p = 0.005) > CEP (85.3%; p = 0.002) > CES (57.5%; p = 0.1).

For citation:

Hladkykh FV, Liadova TI. Characteristics of the hepatotropic activity of cell-free cryopreserved biological agents in the model of autoimmune hepatitis. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):275–289. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-01

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ВСТУП

Аутоімунний гепатит (АІГ) є тяжким переважно хронічним прогресуючим та рецидивуючим імуноопосередкованим запальним захворюванням печінки з динамічними та досить неоднорідними проявами, яке може призвести до цирозу та печінкової недостатності [1, 2]. Щорічна світова захворюваність та поширеність АІГ становлять 1,4 та 17,4 на 100 тис. осіб відповідно [3]. Клінічно АІГ характеризується: біохімічно – високим рівнем трансаміназ у сироватці крові, серологічно – підвищеним рівнем імуноглобуліну G (IgG) та наявністю циркулюючих аутоантитіл, а гістологічно – ступінчастим некрозом [4]. Діагноз АІГ встановлюється клінічно із застосуванням діагностичних балів, однак гетеротопний фенотип захворювання часто ускладнює швидке визначення захворювання [6]. Циркулюючі аутоантитіла вважаються ознакою АІГ і використовуються для класифікації АІГ як тип 1, або класичний аутоімунний гепатит, і тип 2. АІГ типу 1 визначається наявністю антинуклеарних антитіл (ANA) та/або антитіл проти гладких м'язів (ASMA). Титри антитіл понад 1:40 вважаються значущими у дорослих. Тип 2 АІГ менш поширений і уражує переважно дітей [5].

Точні механізми порушення імунної толерантності при АІГ ще не до кінця з'ясовані, але з'являється все більше доказів того, що генетична схильність, молекулярна мімікрія та дисбаланс між ефекторним і регуляторним імунітетом є ключовими патологічними компонентами розвитку захворювання [6]. Як ключові механізми було запропоновано як В-клітинний, так і Т-клітинний аутоімунітет та імунну дисрегуляцію [7]. Печінка є важливим імунологічним органом з унікальною здатністю створювати ефективні імунні відповіді проти гепатотропних патогенів, з одного боку, і підтримувати місцеву та системну імунну толерантність до власних і чужорідних антигенів, з іншого [8].

Аутоантигенний пептид (Ag) презентується Т-клітинному рецептору (TCR) некомітованих Т-хелперних (Th0) лімфоцитів у межах молекули HLA класу II (HLA II) антигенпрезентуючої клітини (APC) або в регіонарних лімфатичних вузлах, або в самій печінці (рис. 1) [4, 9].

Активовані клітини Th0 диференціюються в клітини Th1 або Th2 у присутності інтерлейкіну IL-12 або IL-4 відповідно до природи антигену. Це запускає каскад імунних реакцій, що визначаються цитокінами, які вони виробляють. Клітини Th1 секретують IL-2 та інтерферон (IFN)-γ, цитокіни, які стимулюють цитотоксичні Т-лімфоцити (CTL), посилюють експресію молекул HLA класу I (HLA I), індукують експресію молекул HLA класу II на клітинах печінки та активують макрофаги (МФ). МФ вивільняють IL-1 і фактор некрозу пухлини (TNF). Клітини Th2 секретують переважно IL-4, IL-13 та IL-21 і стимулюють вироблення аутоантитіл В-лімфоцитами, які дозрівають у плазматичні клітини. Регуляторні Т-клітини (T-reg) походять від Th0 у присутності трансформуючого фактора росту (TGF)-β. Якщо T-reg є дефектними за кількістю та/або функціями, руйнування гепатоцитів є результатом залучення пошкоджуючих ефекторних механізмів, включаючи CTL, цитокіни, що вивільняються Th1 та активованим МФ, активація комплементу або адгезія природних клітин-кілерів (NK) до вкритих аутоантитілами гепатоцитів через їх Fc-рецептори. Клітини Th17 продукують запальні цитокіни IL-17, IL-22 і TNF і походять від кліти-

INTRODUCTION

Autoimmune hepatitis (AIH) is a severe, predominantly chronic, progressive, and relapsing immune-mediated inflammatory liver disease characterized by dynamic and quite heterogeneous manifestations, which can lead to cirrhosis and liver failure [1, 2]. The annual global incidence and prevalence of AIH are 1.4 and 17.4 per 100,000 individuals, respectively [3]. Clinically, AIH is characterized by: biochemically – elevated transaminase levels in serum, serologically – increased immunoglobulin G (IgG) levels and the presence of circulating autoantibodies, and histologically – stepwise necrosis [4]. The diagnosis of AIH is established clinically using diagnostic scores; however, the heterotopic phenotype of the disease often complicates rapid diagnosis [6]. Circulating autoantibodies are considered a hallmark of AIH and are used to classify AIH as type 1, or classical autoimmune hepatitis, and type 2. Type 1 AIH is characterized by the presence of antinuclear antibodies (ANA) and/or antibodies against smooth muscle (ASMA). Antibody titers greater than 1:40 are considered significant in adults. Type 2 AIH is less common and predominantly affects children [5].

The precise mechanisms of immune tolerance disruption in AIH are not yet fully understood, but there is increasing evidence that genetic predisposition, molecular mimicry, and an imbalance between effector and regulatory immunity are key pathological components in the development of the disease [6]. Both B-cell and T-cell autoimmunity, as well as immune dysregulation, have been proposed as key mechanisms [7]. The liver is an important immunological organ with a unique ability to generate effective immune responses against hepatotropic pathogens while maintaining local and systemic immune tolerance to self and foreign antigens [8]. Autoantigenic peptides (Ag) are presented to the T-cell receptor (TCR) of naïve T-helper (Th0) lymphocytes within the class II HLA molecule (HLA II) of antigen-presenting cells (APC) either in regional lymph nodes or in the liver itself (Fig. 1) [4, 9].

Activated Th0 cells differentiate into Th1 or Th2 cells in the presence of interleukin (IL)-12 or IL-4, respectively, depending on the nature of the antigen. This initiates a cascade of immune reactions characterized by the cytokines they produce. Th1 cells secrete IL-2 and interferon (IFN)-γ, cytokines that stimulate cytotoxic T lymphocytes (CTLs), enhance the expression of class I HLA molecules (HLA I), induce the expression of class II HLA molecules on liver cells, and activate macrophages (MF). МФ releases IL-1 and tumor necrosis factor (TNF). Th2 cells primarily secrete IL-4, IL-13, and IL-21, stimulating B lymphocytes to produce autoantibodies that mature into plasma cells. Regulatory T cells (T-reg) arise from Th0 in the presence of transforming growth factor (TGF)-β. If T-reg are defective in number and/or function, the destruction of hepatocytes results from the recruitment of damaging effector mechanisms, including CTLs, cytokines released by Th1 and activated МФ, complement activation, or the adhesion of natural killer (NK) cells to autoantibody-coated hepatocytes via their Fc receptors. Th17 cells produce inflammatory cytokines IL-17, IL-22, and TNF and arise from Th0 cells in the presence of TGF-β and IL-6. Hepato-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

тин Th0 у присутності TGF-β та IL-6. Гепатоцит вивільняє IL-6, який додатково стимулює Th17 [4].

cytes release IL-6, which further stimulates Th17. Positive signal: negative signal [4].

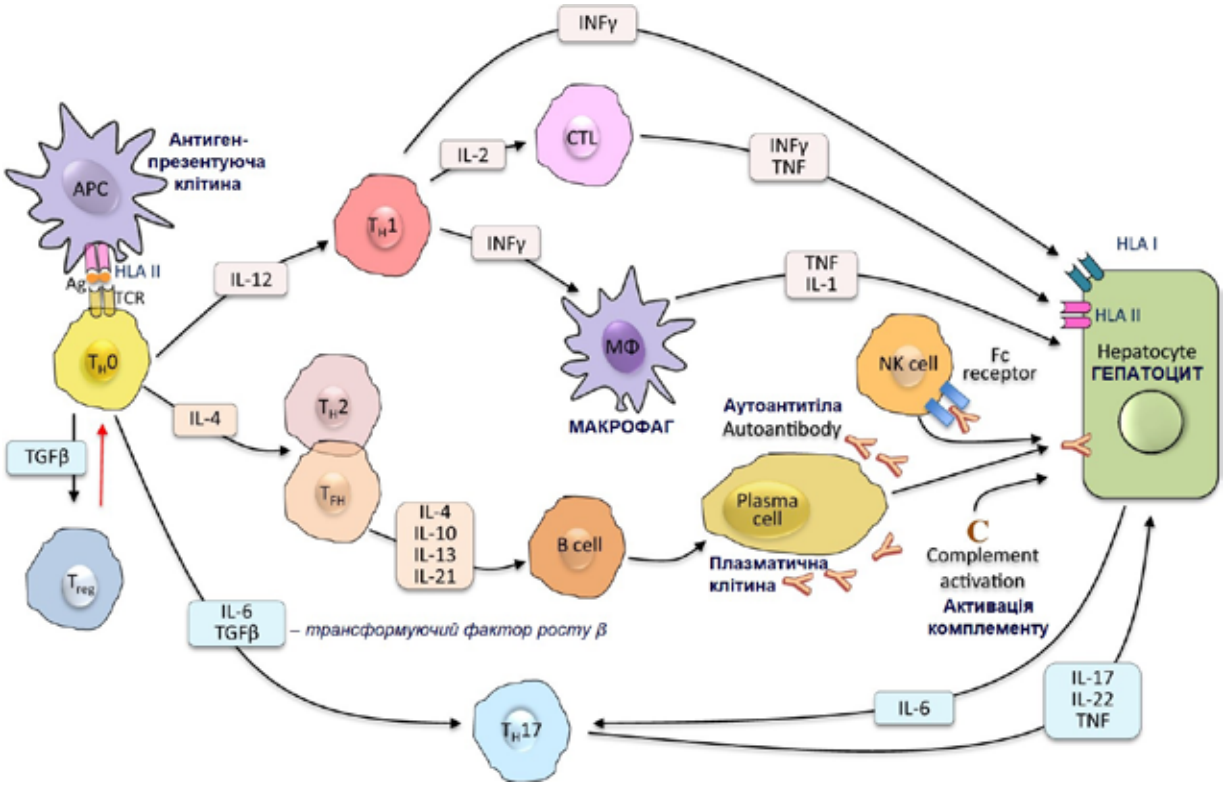


Рис. 1. Схема патогенезу АІГ (адаптовано за [4])
Fig. 1. Pathogenesis of AIH (adapted from [4])

Стандартне лікування хворих на АІГ включає преднізолон і азатіоприн та є ефективним у 80–90% пацієнтів [10]. Згідно з рекомендаціями EASL для дорослих початкова доза преднізолону має бути в діапазоні від 0,5 до 1 мг/кг/добу. Рекомендації AASLD пропонують розпочинати лікування преднізоном із 60 мг/день у гострих тяжких випадках та з 20–40 мг/день у всіх інших випадках [9]. Хоча використання кортикостероїдів є загальновизнаним методом лікування АІГ, окремі пацієнти погано реагують на таке лікування, а деякі хворі можуть зіткнутися з серйозними побічними ефектами або рецидивом після припинення використання стероїдів [11]. З цих причин є актуальним пошук нових підходів до лікування хворих на АІГ [12].

Терапія мезенхімальними стовбуровими клітинами (МСК) має численні переваги, такі як мультипотенціал для диференціювання, антифіброзні властивості та імуномодулюючі ефекти [12, 13]. МСК також здатні взаємодіяти з імунними клітинами, такими як макрофаги, NK-клітини, дендритні клітини, нейтрофіли та ін. Усі разом ці взаємодії можуть сприяти толерогенній активності імунної системи, таким чином сприяючи сприятливому ефекту при різних аутоімунних розладах [12, 14, 15].

Незважаючи на багатообіцяючі результати, питання безпеки терапії на основі МСК все ще є предметом дискусій, особливо в довгостроковому періоді спостереження. Основне занепокоєння викликає небажана диференціація трансплантованих МСК та їх потен-

Standard treatment for patients with autoimmune hepatitis (AIH) includes prednisone and azathioprine and is effective in 80–90% of patients [10]. According to EASL recommendations for adults, the initial dose of prednisone should be in the range of 0.5 to 1 mg/kg/day. AASLD recommendations suggest starting treatment with prednisone at 60 mg/day in acute severe cases and 20–40 mg/day in all other cases [9]. Although the use of corticosteroids is a widely recognized treatment method for AIH, some patients respond poorly to this treatment, and others may experience serious side effects or relapse after stopping steroid use [11]. For these reasons, there is an urgent need to explore new approaches to treating patients with AIH [12].

Mesenchymal stem cell (MSC) therapy has numerous advantages, such as multipotential for differentiation, anti-fibrotic properties, and immunomodulatory effects [12, 13]. MSCs are also capable of interacting with immune cells, such as macrophages, NK cells, dendritic cells, neutrophils, and others. Together, these interactions can promote tolerogenic activity in the immune system, thereby contributing to favorable effects in various autoimmune disorders [12, 14, 15].

Despite promising results, the safety of MSC-based therapies remains a subject of discussion, particularly in the long-term follow-up. The main concern is the unwanted differentiation of transplanted MSCs and their potential to suppress anti-tumor immune responses and create new blood vessels that may facilitate tumor growth and metastasis [16].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ціал для пригнічення протипухлинної імунної відповіді та створення нових кровоносних судин, які можуть сприяти росту пухлини та метастазуванню [16].

Відомо, що МСК виробляють різноманітні біологічно-активні речовини (секретом), які включають цитокіни, хемокіни, молекули клітинної адгезії, ліпідні медіатори, інтерлейкіни, фактори росту, гормони, екзосоми, мікровезикули та ін. [17, 18]. Останні дослідження показали, що стовбурові клітини ефективні в тканинах переважно через їх паракринний вплив [17].

Саме тому нашу увагу в якості потенційних імуномоделюючих засобів з зіставлюваною з МСК біологічною активністю привернули їх похідні, а саме – кондиціоноване середовище МСК (КС-МСК), яке містить широкий спектр біологічно-активних молекул. Оскільки КС-МСК не містить клітин, важливою перевагою використання КС є його імунологічна сумісність для реципієнтів, та як наслідок, збіг донора та реципієнта, що є обов'язковою умовою лікування на основі клітин, не є необхідним при застосуванні КС [17].

Окрім КС-МСК прикладом безклітинних біологічних агентів вважають екстракти з клітин різного походження (спленоцити, гепатоцити, міокардіоцити та ін.). На сьогодні існує ціла низка технологій отримання екстрактів з клітин. Так, у роботі [19] описана така технологія отримання безклітинних екстрактів: клітини промивали фосфатно-сольовим буфером та буфером для лізису клітин (100 мМ HEPES, pH 8,2; 50 мМ NaCl; 5 мМ $MgCl_2$; 1 мМ дитіотреїтол та інгібітори протеази), осадили при 10 тис. об/хв., повторно суспендували в одному об'ємі холодного буфера для лізису клітин та інкубували протягом 30–45 хв. на льоду. Клітини обробляли ультразвуком на льоду в 200-мкл аліквотах за допомогою ультразвуку, обладнаного зондом діаметром 3 мм, доки всі клітини та ядра не були лізовані, як було визначено за допомогою мікроскопії. Лізат осаджували при 12 тис. об/хв протягом 15 хвилин при 4°С для утворення гранул. Супернатант ділили на аліквоти, заморожували в рідкому азоті та зберігали при –80°С. Стандартизували за концентрацією білка в екстрактах клітин, яку визначали методом Бредфорда.

У роботах [20–22] запропоновано технологію отримання безклітинного екстракту за допомогою дії низькими температурами: клітини ресуспендували в 0,9% фізіологічному розчині до концентрації 10^7 клітин/100 мкл. Потім було проведено 3 цикли заморожування (–80°С) та відтавання (+37°С) для лізису клітин. Після центрифугування при 17000 g протягом 30 хвилин при 4°С супернатант (визначений як клітинний екстракт) зберігали при –80°С до використання.

Крім КС-МСК об'єктом нашого дослідження із безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів (БКБЗ) нами було обрано кріоекстракти біологічних тканин, отримані за вітчизняними технологіями, які вичерпно викладено в огляді [23], це кріоекстракт плаценти (КЕП) та кріоекстракт селезінки (КЕС), які за результатами попередніх досліджень мають імуномоделюючі властивості при аутоімунних захворюваннях [24, 25].

Мета роботи – охарактеризувати гепатотропну активність безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів (кондиціонованого середовища МСК, кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки) за показниками пігментного обміну та антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу на моделі аутоімунного гепатиту у щурів.

MSCs are known to produce a variety of biologically active substances (secretome), including cytokines, chemokines, cell adhesion molecules, lipid mediators, interleukins, growth factors, hormones, exosomes, microvesicles, and others [17, 18]. Recent studies have shown that stem cells are effective in tissues primarily through their paracrine effects [17].

For this reason, our attention was drawn to the derivatives of MSCs as potential immunomodulatory agents with comparable biological activity, namely conditioned medium from MSCs (CM-MSC), which contains a wide range of biologically active molecules. Since CM-MSC does not contain cells, an important advantage of using it is its immunological compatibility for recipients. Consequently, matching between donor and recipient, which is a mandatory condition for cell-based treatments, is not necessary [17].

In addition to CM-MSC, examples of acellular biological agents include extracts from cells of various origins (splenocytes, hepatocytes, cardiomyocytes, etc.). Currently, there are several technologies for obtaining extracts from cells. For instance, the study [19] describes the following technology for obtaining acellular extracts: cells were washed with phosphate-buffered saline and lysis buffer (100 mM HEPES, pH 8.2; 50 mM NaCl; 5 mM $MgCl_2$; 1 mM dithiothreitol and protease inhibitors), centrifuged at 10,000 rpm, and resuspended in one volume of cold lysis buffer. They were incubated for 30–45 minutes on ice. Cells were treated with ultrasound on ice in 200 µL aliquots using a 3 mm diameter probe until all cells and nuclei were lysed, as confirmed by microscopy. The lysate was centrifuged at 12,000 rpm for 15 minutes at 4°C to form pellets. The supernatant was aliquoted, frozen in liquid nitrogen, and stored at –80°C. The concentration of protein in the cell extracts was standardized using the Bradford method.

In studies [20, 21, 22], a technology for obtaining acellular extracts through low-temperature action was proposed: cells were resuspended in 0.9% saline to a concentration of 10^7 cells/100 µL. Then, three cycles of freezing (–80°C) and thawing (+37°C) were performed to lyse the cells. After centrifugation at 17,000 g for 30 minutes at 4°C, the supernatant (defined as the cell extract) was stored at –80°C until use.

Thus, in addition to CM-MSC, we chose cryoextracts of biological tissues obtained through domestic technologies as the subject of our study among acellular cryopreserved biological agents (ACBAs). These include cryoextracts of placenta (CEP) and spleen (CES), which, according to previous studies, possess immunomodulatory properties in autoimmune diseases [24, 25].

Objective – to characterize the hepatotropic activity of acellular cryopreserved biological agents (conditioned medium of mesenchymal stem cells, cryoextract of placenta, and cryoextract of spleen) based on indicators of pigment metabolism and antioxidant-prooxidant homeostasis in a model of autoimmune hepatitis in rats.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проведені на лабораторних щурах у відповідності до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р., Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (м. Київ, 2001 р.) та ін. чинних вітчизняних та міжнародних нормативних актів [26, 27]

АІГ у щурів моделювали шляхом введення гепатотропної антигенної суміші, яка складалась з повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ) (Thermo Fisher Scientific, США) та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної печінки [28].

Гомогенат тканини печінки готували з дотриманням правил асептики за стандартною методикою підготовки тканинних антигенів [29]. Фрагменти печінки подрібнювали ножицями та відмивали від крові у холодному 0,9% розчині NaCl, після чого розтирали у ступці з кварцевим піском. Гомогенну масу переносили у колбу, розчиняли ізотонічним розчином у співвідношенні 1:2, перемішували пропусканням триразово через шприц та відстоювали при –4°С близько 20 годин. Надосадну рідину центрифугували протягом 30 хвилин при 3000 об./хв при –4°С. В надосадній рідині визначали вміст білка та доводили його концентрацію до 80 мг на 1 мл гомогенату. Стандартизований за вмістом білка гомогенат печінки змішували з ПАФ у співвідношенні 1:1 та «переганяли» з шприца в шприц через перехідник до загуснення, щоб крапля отриманої емульсії не руйнувалась у воді протягом 30 хв. [30].

Гепатотропну антигенну суміш вводили щурам внтурішньом'язово (в/м) по 2,0 мл 1 раз на тиждень упродовж 6 тижнів (на 1, 7, 14, 21, 28 та 35 дні експерименту) [28].

Досліджувані препарати починали вводити через 7 днів після останньої ін'єкції гепатотропної антигенної суміші [28]. БКБЗ вводили в/м, з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту. Як референс-препарат обрано гепатопротектор силібор – рослинний екстракт з насіння розторопші плямистої (Silybum marianum) [31, 32]. Силібор вводили внутрішньошлунково (в/шл) на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в дозі 50 мг/кг [33, 34].

Дослідження ефективності БКБЗ при АІГ проведені на 42 шурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n = 7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;

II – щури зі змодельованим АІГ (n = 7) без лікування (контрольна група), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг;

III – щури зі змодельованим АІГ (n = 7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту внутрішньошлунково (в/шл) вводили референс-препарат силібор в дозі 50 мг/кг [33];

IV – щури зі змодельованим АІГ (n = 7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [35];

MATERIALS AND METHODS

Experimental studies were conducted on laboratory rats in accordance with the Law of Ukraine «On the Protection of Animals from Cruel Treatment№ № 3477-IV dated February 21, 2006, the General Ethical Principles of Animal Experiments adopted by the First National Congress of Ukraine on Bioethics (Kyiv, 2001), and other current domestic and international regulations [26, 27].

Autoimmune hepatitis (AIH) in rats was modeled by administering a hepatotropic antigenic mixture composed of Freund's complete adjuvant (FCA) (Thermo Fisher Scientific, USA) and a solution of antigen obtained from the homogenate of allogeneic liver [28].

The liver tissue homogenate was prepared following aseptic rules according to standard methods for preparing tissue antigens [29]. Fragments of the liver were cut into small pieces and washed of blood in cold 0.9% NaCl solution, after which they were ground in a mortar with quartz sand. The homogenate was transferred to a flask, dissolved in isotonic solution at a ratio of 1:2, mixed by passing through a syringe three times, and left to stand at –4°C for about 20 hours. The supernatant was centrifuged for 30 minutes at 3000 rpm at –4°C. The protein content in the supernatant was determined, and its concentration was adjusted to 80 mg per 1 ml of homogenate. The protein-standardized liver homogenate was mixed with FCA in a 1:1 ratio and «shuttled» between syringes using an adapter until thickened, ensuring that a drop of the resulting emulsion did not break in water for 30 minutes [30].

The hepatotropic antigenic mixture was administered to the rats intramuscularly (i.m.) at a dose of 2.0 ml once a week for 6 weeks (on days 1, 7, 14, 21, 28, and 35 of the experiment) [28].

The studied preparations were started to be administered 7 days after the last injection of the hepatotropic antigenic mixture [28]. The acellular cryopreserved biological agents (ACBAs) were administered intramuscularly, with an interval of 2 days (a total of 5 injections), on days 42, 44, 46, 48, and 50 of the experiment. The reference preparation chosen was the hepatoprotector Silybor – a plant extract from the seeds of milk thistle (Silybum marianum) [31, 32]. Silybor was administered intragastrically (i.g.) on days 42, 44, 46, 48, and 50 of the experiment at a dose of 50 mg/kg [33, 34].

The effectiveness of acellular cryopreserved biological agents (ACBAs) in autoimmune hepatitis (AIH) was studied in 42 male rats weighing 200–220 g, randomized into 6 groups:

I (negative control) – intact rats (n = 7) that received 0.9% NaCl solution at a dose of 1.0 ml/kg body weight intramuscularly (IM) on days 42, 44, 46, 48, and 50 of the experiment;

II – rats with induced AIH (n = 7) without treatment (control group), which received 0.9% NaCl solution IM at a dose of 1.0 ml/kg on days 42, 44, 46, 48, and 50;

III – rats with induced AIH (n = 7) that were administered the reference drug Silybor at a dose of 50 mg/kg intragastrically (IG) on days 42, 44, 46, 48, and 50;

IV – rats with induced AIH (n = 7) that received cryoextract of placenta (CEP) at a dose of 2.5 ml/kg IM on days 42, 44, 46, 48, and 50;

V – rats with induced AIH (n = 7) that received cryo-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

V – щури зі змодельованим АІГ (n = 7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [36, 37];

VI – щури зі змодельованим АІГ (n = 7), яким на 42, 44, 46, 48 та 50 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [38].

На 52 день експерименту тварин виводили з експерименту та екстирпували печінку для подальших досліджень. Матеріалом дослідження виступали кров та гомогенати печінки [39]. Зразки змішаної крові після декапітації тварин відбирали у центрифужні пробірки. Сироватку відділяли центрифугуванням впродовж 15 хв при 3000 об/хв. Тканини печінки промивали холодним (+4°С) ізотонічним 1,15% розчином KCl та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15% розчину KCl), отримуючи 10% гомогенат. Постядерний супернатант отримували шляхом центрифугування гомогенату впродовж 30 хв при 600 g з подальшим відбором аліквот у мікропробірки «Eppendorf».

Вміст реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП) визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. за реакцією з тіобарбітуровою кислотою та розраховували за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжині хвилі λ = 535 нм, враховуючи коефіцієнт молярної екстинції забарвленого у червоний колір комплексу, який дорівнює 1,56 × 10^5 моль$^{-1}$/см$^{-1}$ [40].

Активність каталази визначали спектрофотометрично за методом Королюк М.А. та співавт. за світлопоглинанням при довжини хвилі λ = 410 нм. Метод ґрунтується на здатності каталази розкладати H_2O_2 та утворювати стійкий комплекс жовтого кольору з амоній молібдатом (4,0% – 1,0 мл), який додають для зупинки реакції H_2O_2 з каталазою [41, 42]. Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) визначали за формулою:

АПІ = (Активність каталази × 100) / Вміст ТБК-РП.

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали спектрофотометрично за методом Чевари С. та співавт., за здатністю СОД інгібувати відновлення нітротетразолію синього при наявності НАДН2 за показниками оптичної щільності, визначеними при довжини хвилі λ = 540 нм [43, 44].

Концентрацію білірубіну (загального, прямого та зв'язаного) визначали спектрофотометрично за реакцією діазофенілсульфонової кислоти з прямим білірубіном. При внесенні кофеїнового реактиву непрямий білірубін переходить в розчинний стан та з сумішшю діазореактивів дає рожево-фіолетове забарвлення. За інтенсивністю забарвлення визначали концентрацію прямого і загального білірубіну. Інтенсивність забарвлення визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі λ = 500–560 нм. За різницею між загальним і прямим білірубіном розраховували концентрацію непрямого білірубіну [44–46].

Статистична обробка даних. Статистичну обробку отриманих результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel». Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію

extract of spleen (CES) at a dose of 5.0 ml/kg IM on days 42, 44, 46, 48, and 50;

VI – rats with induced AIH (n = 7) that were administered conditioned medium of mesenchymal stem cells (MSC-CM) at a dose of 0.6 ml/kg IM on days 42, 44, 46, 48, and 50.

On day 52 of the experiment, the animals were euthanized, and their livers were excised for further studies. The materials for the study included blood and liver homogenates. Blood samples were collected in centrifuge tubes after decapitating the animals. Serum was separated by centrifugation for 15 minutes at 3000 rpm. The liver tissues were washed with cold (+4°C) isotonic 1.15% KCl solution and homogenized at 3000 rpm (Teflon-glass) in a buffer solution at a ratio of 1:10 (weight/volume: 250 mg sample + 2.25 ml of 1.15% KCl solution), yielding a 10% homogenate. The post-nuclear supernatant was obtained by centrifuging the homogenate for 30 minutes at 600 g, followed by aliquot collection into Eppendorf microtubes.

The content of reactants with 2-thiobarbituric acid (TBA-RP) was determined spectrophotometrically using the method of Asakawa T. et al. based on the reaction with thiobarbituric acid, calculated from the optical density measured at a wavelength of λ = 535 nm, taking into account the molar extinction coefficient of the red-colored complex, which is equal to 1.56 ×10^5 mol^{-1}/cm^{-1} [40].

Catalase activity was determined spectrophotometrically using the method of Korolyuk M.A. et al. by measuring light absorption at a wavelength of λ = 410 nm. This method is based on the ability of catalase to decompose H_2O_2 and form a stable yellow complex with ammonium molybdate (4.0% – 1.0 ml), which is added to stop the reaction between H_2O_2 and catalase [41, 42]. The antioxidant-prooxidant index (API) was calculated using the formula:

API = (Catalase Activity × 100) / TBA-RP Content.

The activity of superoxide dismutase (SOD) was determined spectrophotometrically using the method of Chevari S. et al., based on SOD's ability to inhibit the reduction of nitroblue tetrazolium in the presence of NADH2, with optical density measurements taken at a wavelength of λ = 540 nm [43, 44].

The concentration of bilirubin (total, direct, and conjugated) was measured spectrophotometrically through the reaction of diazophenylsulfonic acid with direct bilirubin. When caffeine reagent is added, indirect bilirubin becomes soluble and reacts with the diazo reagents to produce a pink-violet color. The intensity of the color was used to determine the concentrations of direct and total bilirubin, measured at wavelengths of λ = 500–560 nm. The concentration of indirect bilirubin was calculated as the difference between total and direct bilirubin [44, 45, 46].

Statistical data analysis. Statistical processing of the obtained results was performed using the «Microsoft Office Excel» spreadsheet program. The distribution of values in each group of the sample population was assessed using the Shapiro-Wilk W-test. Homogeneity of variances was determined using Levene's test. Numeric data with normal distribution are presented as «M ± m» (M ± SE), where M is the arithmetic mean, m (SE) is the standard error of the mean, and includes 95% confidence intervals (CI): 5% – 95%, where 95% CI

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Шапіро–Вілка. Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена. Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді «M ± m» (M ± SE), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного та наводили 95% ДІ: 5% – 95%, де 95% ДІ: – 95% довірчий інтервал (Confidence interval – CI). При ненормальному розподілі отриманих величин дані подано у вигляді Me [LQ; UQ], де Me – медіана, [LQ; UQ] – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квартиля (upper quartile – UQ). Для графічного представлення даних обрано діаграми розмаху (box-and-whiskers diagram – «шухлядові» діаграми з «вусами») [47].

represents the confidence interval. For non-normally distributed data, results are presented as Me [LQ; UQ], where Me is the median, [LQ; UQ] indicates the lower and upper quartiles. Box-and-whisker diagrams were chosen for the graphical representation of data [47].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Оцінка стану пігментного обміну показала, що на тлі розвитку АІГ у щурів відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня загального білірубіну у крові на 148,9% відносно показників інтактних щурів, що становило 33,4 ммоль/л (табл. 1). Зростання загального білірубіну у тварин групи контролю відбувалось переважно за рахунок пулу прямого білірубіну – його концентрація статистично вірогідно ($p < 0,001$) зросла на 240,0% та становила 17,0 ммоль/л, в той час як вміст непрямого білірубіну зріс ($p < 0,001$) лише на 98,3% відносно показників інтактних щурів (табл. 1).

RESULTS AND DISCUSSION

The assessment of pigment metabolism revealed a statistically significant increase ($p < 0.001$) in total bilirubin levels in the blood of rats with autoimmune hepatitis (AIH), rising by 148.9% compared to intact rats, with a value of 33.4 mmol/L (Table 1). The increase in total bilirubin in the control group was primarily due to the rise in direct bilirubin, which significantly ($p < 0.001$) increased by 240.0%, reaching 17.0 mmol/L, while indirect bilirubin levels rose ($p < 0.001$) by only 98.3% compared to those of intact rats (Table 1).

Таблиця 1. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на концентрацію білірубіну в сироватці крові щурів з АІГ на 52 день експерименту, ммоль/л (M ± m (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n = 42)
Table 1. Effect of cryoextract of placenta, cryoextract of spleen, conditioned medium of mesenchymal stem cells, and silybor on bilirubin concentration in serum of rats with autoimmune hepatitis on day 52 of the experiment, mmol/L (M ± m (95% CI) or Me [LQ; UQ], n=42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання Studied indicator, units of measurement	Умови експерименту / Experimental conditions					
	Група I Group I (1, n=7)	Група II Group II (2, n=7)	Група III Group III (3, n=7)	Група IV Group IV (4, n=7)	Група V Group V (5, n=7)	Група VI Group VI (6, n=7)
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АІГ без лікування) Control (AIH without treatment)	АІГ + силібор AIH + silibor	АІГ + КЕП AIH + CEP	АІГ + КЕС AIH + CES	АІГ + КС-МСК AIH + CM-MSC
Загальний білірубін, ммоль/л Total bilirubin, mmol/L	13,4±0,69 (95% ДІ/CI: 12,1–14,8)	33,4±1,67 (95% ДІ/CI: 30,1–36,7) p_1<0,001 [148,9%]	19,7±0,84 (95% ДІ/CI: 18,1–21,4) p_2<0,001 [41,0%]	16,9±0,86 (95% ДІ/CI: 15,2–18,5) p_2<0,001 [49,6%] p_3<0,05 [14,5%]	20,0±1,23 (95% ДІ/CI: 1 7,6–22,4) p_2<0,001 [40,2%] p_3=0,9 [2,7%]	15,9±0,96 (95% ДІ/CI: 14,0–17,7) p_2<0,001 [52,6%] p_3<0,05 [19,6%]
Прямий білірубін, ммоль/л Direct bilirubin, mmol/L	5,0 [4,0; 6,0]	17,0 [14,5; 19,5] p_1<0,001 [240,0%]	9,0 [8,0; 9,0] p_2<0,001 [47,1%]	8,0 [7,5; 9,5] p_2<0,01 [52,9%] p_3=0,37 [11,1%]	10,0 [9,0; 11,5] p_2<0,01 [41,2%] p_3=0,03 [11,1%]	7,0 [5,5; 8,5] p_2<0,001 [58,8%] p_3<0,05 [22,2%]
Непрямий білірубін, ммоль/л Indirect bilirubin, mmol/L	8,3±0,57 (95% ДІ/CI: 7,2–9,4)	16,4±1,13 (95% ДІ/CI: 14,2–18,6) p_1<0,001 [98,3%]	11,1±0,88 (95% ДІ/CI: 9,4–12,9) p_2<0,01 [32,2%]	8,3±0,97 (95% ДІ/CI: 6,4–10,2) p_2<0,001 [49,6%] p_3=0,1 [25,6%]	9,9±1,28 (95% ДІ/CI: 7,3–12,4) p_2<0,01 [40,0%] p_3=0,4 [21,9%]	8,9±1,06 (95% ДІ/CI: 6,8–10,9) p_2<0,001 [46,1%] p_3=0,1 [20,5%]

Примітки:
p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.

Notes:
p_1 – level of statistical significance of the difference in indicators;
[%] – values of the differences in indicators as a percentage;
Indices 1, 2, 3 indicate the number of the group with which the comparison was made.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Підвищення рівня білірубіну класифікують як пряму (кон'юговану) гіпербілірубінемію та непряму (некон'юговану) гіпербілірубінемію [48, 49]. Виявлене нами підвищення рівня білірубіну та його фракцій на тлі АІГ у щурів належить до прямої гіпербілірубінемії, оскільки відбувалось переважно за рахунок прямого білірубіну. Як відомо, гемоліз є найчастішою причиною непрямої гіпербілірубінемії, за якою слідує синдром Жильбера. З іншого боку, пряма гіпербілірубінемія вказує на патологію печінки, включаючи холестатичну реакцію на ліки, аутоімунне холестатичне захворювання та обструкцію жовчних шляхів [48, 49].

Застосування референс-препарату силібору нівелювало порушення пігментного обміну, індукованого розвитком АІГ у щурів. Встановлено, що рівень загального білірубіну у щурів з АІГ, яким вводили силі бор, статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 41,0% був нижчим за показники тварин з АІГ без лікування (див. табл. 1).

Серед досліджуваних БКБЗ введення КЕС супроводжувалось зіставлюваною з силібором здатністю нормалізувати рівень загального білірубіну у щурів з АІГ. Рівень вказаного показника статистично вірогідно ($p<0,001$) знизився на 40,2% та становив 20,0 ммоль/л. В той же час введення КЕС поступалось за здатністю нормалізувати пігментний обмін іншим БКБЗ (див. табл. 1).

Інші БКБЗ (КЕП та КС-МСК) перевищували за здатністю нормалізувати пігментний обмін у щурів з АІГ як КЕС, так і референс-препарат силібор. Так, на тлі введення КЕП рівень загального білірубіну у щурів з АІГ статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 49,6%, а на тлі введення КС-МСК – статистично вірогідно знизився ($p < 0,001$) на 52,6% відносно показників щурів контрольної групи та становив відповідно 16,9 ммоль/л та 15,9 ммоль/л (див. табл. 1).

Варто зазначити, що на тлі застосування КС-МСК відмічено тенденцію до відновлення пропорційного співвідношення прямого та непрямого білірубіну. Так, на тлі введення КС-МСК співвідношення прямий: непрямий білірубін становило 1:1,3; на тлі введення силібору – 1:1,2; в той час як на тлі введення досліджуваних кріоекстрактів аналогічні співвідношення залишались незмінними та становили 1:1, як і у тварин контрольної групи (1:1), в той час як у інтактних тварин аналогічне співвідношення дорівнювалось 1:1,7.

Таким чином, за здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності (за % зниження загального білірубіну відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (52,6%; $p < 0,001$) > КЕП (49,6%; $p < 0,001$) > КЕС (40,2%; $p < 0,001$).

Дослідження стану антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах печінки на тлі розвитку АІГ показало, що при розвитку аутоімунного ураження печінки у щурів відмічено статистично вірогідне зростання вмісту ТБК-РП ($p < 0,001$) на 172,5%, що відбувалось на тлі статистично вірогідного зниження ($p = 0,004$) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% ($p = 0,4$) активності каталази (табл. 2).

Вказані ознаки активації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та виснаження антиоксидантної системи (АОС) призвели до статистично вірогідного зниження ($p = 0,002$) інтегрального показника ПОЛ-АОС – АПІ на 71,0% відносно показників інтактних щурів (рис. 2). Показана активація ПОЛ узгоджується з даними літератури про розвиток оксидантного стресу у хворих на АІГ [50].

This elevation in bilirubin levels is classified as direct (conjugated) hyperbilirubinemia and indirect (unconjugated) hyperbilirubinemia [48, 49]. The increase in bilirubin and its fractions observed in our study of rats with AIH corresponds to direct hyperbilirubinemia, as it primarily involved direct bilirubin. Hemolysis is known to be the most common cause of indirect hyperbilirubinemia, followed by Gilbert's syndrome. Conversely, direct hyperbilirubinemia indicates liver pathology, including cholestatic reactions to drugs, autoimmune cholestatic diseases, and obstruction of the bile ducts [48, 49].

The use of the reference preparation silibor neutralized the disturbances in pigment metabolism induced by the development of autoimmune hepatitis (AIH) in rats. It was established that the level of total bilirubin in rats with AIH, which were administered silibor, was statistically significantly ($p < 0.001$) 41.0% lower than the levels in animals with AIH that did not receive treatment (see Table 1).

Among the studied ACBAs, the administration of CES was accompanied by a comparable ability to normalize the total bilirubin level in rats with AIH. The level of this indicator statistically significantly ($p < 0.001$) decreased by 40.2% and amounted to 20.0 mmol/L. At the same time, the administration of CES was inferior in its ability to normalize the pigment metabolism compared to other ACBAs (see Table 1).

Other ACBAs (CEP and MSC-CM) exceeded both CES and the reference drug Silibor in their ability to normalize the pigment metabolism in rats with AIH. Thus, after the administration of CEP, the total bilirubin level in rats with AIH statistically significantly decreased ($p < 0.001$) by 49.6%, while the administration of KS-MSK led to a statistically significant decrease ($p < 0.001$) of 52.6% compared to the control group, resulting in levels of 16.9 mmol/L and 15.9 mmol/L, respectively (Table 1).

It is worth noting that the use of MSC-CM showed a trend towards restoring the proportional relationship between direct and indirect bilirubin. Thus, after the administration of MSC-CM, the ratio of direct to indirect bilirubin was 1:1.3; after the administration of Silibor, it was 1:1.2; while in the case of the investigated cryoextracts, similar ratios remained unchanged at 1:1, as in the control group animals (1:1), whereas in intact animals, the corresponding ratio was 1:1.7.

Thus, in terms of the ability to normalize pigment metabolism in the context of AIH, the studied BCKZ can be ranked in the following order (by % decrease in total bilirubin compared to the control group): MSC-CM (52.6%; $p < 0.001$) > CEP (49.6%; $p < 0.001$) > CES (40.2%; $p < 0.001$).

The study of the antioxidant-prooxidant homeostasis in the liver tissues during the development of AIH showed that in the course of autoimmune liver damage in rats, a statistically significant increase in the content of TBA-RP ($p < 0.001$) by 172.5% was noted, occurring against the background of a statistically significant decrease ($p = 0.004$) in SOD activity by 40.0% and a 20.0% decrease ($p = 0.4$) in catalase activity (Table 2).

These signs of activation of lipid peroxidation (LPO) processes and exhaustion of the antioxidant system (AOS) led to a statistically significant decrease ($p = 0.002$) in the integral indicator of LPO-AOS – API – by 71.0% compared to the indicators of intact rats (see Fig. 2). The demonstrated activation of LPO aligns with literature data on the development of oxidative stress in patients with AIH [50].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 2. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на біохімічні показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах печінки щурів з АІГ на 52 день експерименту (M ± m (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n = 42)
Table 2. Effect of cryoextract of placenta, cryoextract of spleen, conditioned medium of mesenchymal stem cells, and silybor on biochemical indicators of lipid peroxidation and the antioxidant system in liver homogenates of rats with autoimmune hepatitis on day 52 of the experiment (M ± m (95% CI) or Me [LQ; UQ], n = 42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання Studied indicator, units of measurement	Умови експерименту / Experimental conditions					
	Група I Group I (1, n=7)	Група II Group II (2, n=7)	Група III Group III (3, n=7)	Група IV Group IV (4, n=7)	Група V Group V (5, n=7)	Група VI Group VI (6, n=7)
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АІГ без лікування) Control (AIH without treatment)	АІГ + силібор AIH + silibor	АІГ + КЕП AIH + CEP	АІГ + КЕС AIH + CES	АІГ + КС-МСК AIH + CM-MSC
ТБК-РП, мкмоль/кг тканини TBA-RP, μmol/kg of tissue	5,7±0,57 (95% ДІ/CI: 4,6–6,8)	15,6±1,09 (95% ДІ/CI: 13,4–17,7) p_1<0,001 [172,5%]	8,9±0,86 (95% ДІ/CI: 7,2–10,5) p_2<0,001 [43,1%]	11,1±0,63 (95% ДІ/CI: 9,9–12,4) p_2<0,01 [28,4%] p_3<0,1 [25,8%]	11,9±1,24 (95% ДІ/CI: 9,4–14,3) p_2<0,05 [23,9%] p_3<0,1 [31,3%]	6,4±0,53 (95% ДІ/CI: 5,4–7,5) p_2<0,001 [58,7%] p_3<0,05 [27,4%]
Каталаза, мкат/кг тканини Catalase, μkat/kg of tissue	2,1±0,46 (95% ДІ/CI: 1,2–3,0)	1,7±0,29 (95% ДІ/CI: 1,2–2,3) p_1=0,4 [20,0%]	2,3±0,42 (95% ДІ/CI: 1,5–3,1) p_2=0,3 [33,3%]	2,1±0,34 (95% ДІ/CI: 1,5–2,8) p_2=0,4 [25,0%] p_3=0,8 [6,3%]	1,9±0,34 (95% ДІ/CI: 1,2–2,5) p_2=0,8 [8,3%] p_3=0,4 [18,8%]	2,0±0,31 (95% ДІ/CI: 1,4–2,6) p_2=0,5 [16,7%] p_3=0,6 [12,5%]
СОД, ум. од. / кг SOD, conditional units/kg	5,0 [3,5; 7,5]	3,0 [2,0; 3,0] p_1=0,004 [40,0%]	5,0 [4,5; 7,5] p_2=0,006 [66,7%]	4,0 [2,5; 5,5] p_2=0,08 [33,3%] p_3=0,1 [20,0%]	4,0 [2,5; 6,0] p_2=0,3 [20,0%] p_3=0,3 [20,0%]	5,0 [4,5; 9,0] p_2=0,006 [66,7%] p_3=0,3 [0%]

Примітки:
p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
[%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.

Notes:
p_1 – level of statistical significance of the difference in indicators;
[%] – values of the differences in indicators as a percentage;
Indices 1, 2, 3 indicate the number of the group with which the comparison was made.

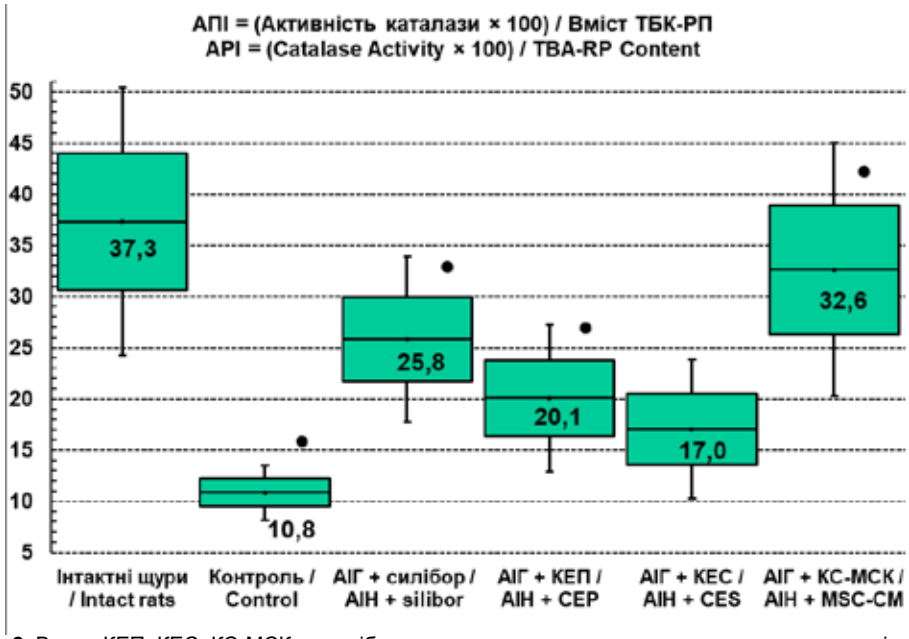


Рис. 2. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та силібору на значення антиоксидантно-прооксидантного індексу в гомогенатах печінки щурів з АІГ
Fig. 2. Effect of cryoextract of placenta, cryoextract of spleen, conditioned medium of mesenchymal stem cells, and silybor on the values of the antioxidant-prooxidant index in liver homogenates of rats with AIH

Примітки:
Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95% довірчий інтервал.
Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
● – p < 0,05 відносно показників інтактних щурів.

Notes:
The distribution of values in each group of the sample population is normal.
The boxes include the values of the standard error of the mean, and the vertical lines outside the boxes represent the 95% confidence interval.
The horizontal line inside the box indicates the mean value.
● – p < 0.05 relative to the indicators of intact rats.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Досліджувані кріоекстракти поступались за здатністю нівелювати ПОЛ референс-препарату силібору. Так, рівень ТБК-РП у щурів з АІГ на тлі введення силібору становив 8,9 мкмоль/кг тканини, в той час як на тлі введення КЕП цей показник становив 11,1 мкмоль/кг тканини, а на тлі введення КЕС – 11,9 мкмоль/кг тканини, що відповідно на 28,4% ($p < 0,01$) та на 23,9% ($p < 0,05$) було нижче за показники щурів контрольної групи (табл. 2).

Найвиразніше пригнічення процесів ПОЛ відмічено на тлі застосування КС-МСК у щурів з АІГ – рівень ТБК-РП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизився на 58,7% відносно тварин контрольної групи та становив 6,4 мкмоль/кг тканини (див. табл. 2).

За здатністю відновлювати активність каталази у тканинах печінки на тлі АІГ у щурів всі досліджувані БКБЗ поступались референс-препарату силібору. Так, за здатністю відновлювати активність каталази досліджувані засоби можна розташувати у такій послідовності (за % зростання щодо показників щурів контрольної групи): силібор (33,3%; $p = 0,3$) > КЕП (25,0%; $p = 0,4$) > КС-МСК (16,7%; $p = 0,5$) > КЕС (8,3%; $p = 0,8$).

За здатністю відновлювати активність СОД у щурів на тлі АІГ досліджувані кріоекстракти поступались за ефективністю рефренс-препарату силібору. В той же час, встановлено, що введення КС-МСК чинило зіставлюваний з силібором вплив на активність СОД, – її активність статистично вірогідно ($p = 0,006$) зросла на 66,7% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 2).

За здатністю відновлювати баланс в системі ПОЛ-АОС досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності (% зростанні АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$).

Встановлені антиоксидантні властивості у КС-МСК узгоджувались з даними літератури про наявність зазначеної активності у похідних МСК [51]. Встановлений нами модулюючий вплив КЕП на ПОЛ-АОС узгоджується з попередніми дослідженнями аналогічної активності БКБЗ, у тому числі КЕП та КС-МСК [52, 53].

The studied cryo-extracts were inferior in their ability to mitigate LPO compared to the reference drug Silibor. Thus, the level of TBA-RP in rats with AIH after Silibor administration was 8.9 μmol/kg of tissue, while after KEP administration, this indicator was 11.1 μmol/kg of tissue, and after KES administration, it was 11.9 μmol/kg of tissue, which was 28.4% ($p < 0.01$) and 23.9% ($p < 0.05$) lower than the indicators of the control group (Table 2).

The most pronounced suppression of LPO processes was noted after the administration of MSC-CM in rats with AIH – the level of TBA-RP statistically significantly ($p < 0.001$) decreased by 58.7% compared to the control group animals, amounting to 6.4 μmol/kg of tissue (see Table 2).

In terms of the ability to restore catalase activity in the liver tissues against the background of AIH in rats, all studied ACBAs were inferior to the reference drug Silibor. Thus, the studied agents can be ranked in the following order (by % increase relative to the indicators of the control group): silibor (33.3%; $p = 0.3$) > CEP (25.0%; $p = 0.4$) > KS- MSC-CM (16.7%; $p = 0.5$) > CES (8.3%; $p = 0.8$).

In terms of the ability to restore SOD activity in rats with AIH, the studied cryo-extracts were less effective than the reference drug Silibor. At the same time, it was found that the administration of MSC-CM had an effect on SOD activity comparable to that of silibor – its activity statistically significantly ($p = 0.006$) increased by 66.7% relative to the indicators of the control group (see Table 2).

In terms of restoring balance in the LPO-AOS system, the studied ACBAs can be ranked in the following order (by % increase in API relative to the indicators of the control group animals): MSC-CM (201.4%; $p = 0.005$) > CEP (85.3%; $p = 0.002$) > CES (57.5%; $p = 0.1$).

The established antioxidant properties of MSC-CM were consistent with literature data regarding the presence of such activity in derivatives of MSC [51]. The modulatory effect of CEP on LPO-AOS that we established aligns with previous studies on the similar activity of ACBAs, including CEP and MSC-CM [52, 53].

ВИСНОВКИ

На тлі розвитку АІГ у щурів відмічалось зростання ($p < 0,001$) рівня загального білірубіну на 148,9%, зростання вмісту ТБК-РП ($p <0,001$) на 172,5%, зниження ($p = 0,004$) активності СОД на 40,0% та зниження на 20,0% ($p = 0,4$) активності каталази.

За здатністю нормалізувати пігментний обмін на тлі АІГ досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності (за % зниження загального білірубіну відносно показників тварин групи контролю): КС-МСК (52,6%; $p < 0,001$) > КЕП (49,6%; $p < 0,001$) > КЕС (40,2%; $p < 0,001$).

За здатністю відновлювати баланс в системі ПОЛ-АОС досліджувані БКБЗ можна розташувати у такій послідовності (% зростанні АПІ відносно показників тварин контрольної групи): КС-МСК (201,4%; $p=0,005$) > КЕП (85,3%; $p=0,002$) > КЕС (57,5%; $p=0,1$).

CONCLUSIONS

Against the background of AIH development in rats, there was an increase ($p < 0.001$) in the total bilirubin level by 148.9%, an increase in the TBA-RP content ($p < 0.001$) by 172.5%, a decrease ($p = 0.004$) in SOD activity by 40.0%, and a decrease in catalase activity by 20.0% ($p = 0.4$).

In terms of the ability to normalize pigment metabolism against the background of AIH, the studied ACBAs can be ranked in the following order (by % decrease in total bilirubin relative to the indicators of the control group animals): MSC-CM (52.6%; $p < 0.001$) > CEP (49.6%; $p < 0.001$) > CES (40.2%; $p < 0.001$).

In terms of the ability to restore balance in the LPO-AOS system, the studied ACBAs can be ranked in the following order (by % increase in API relative to the indicators of the control group animals): MSC-CM (201.4%; $p = 0.005$) > CEP (85.3%; $p = 0.002$) > CES (57.5%; $p = 0.1$).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Komori A. Recent updates on the management of autoimmune hepatitis. *Clinical and molecular hepatology.* 2021. Vol. 27(1). P. 58–69. DOI: https://doi.org/10.3350/cmh.2020.0189
2. Reau N.S., Lammert C.S., Weinberg E.M. Autoimmune hepatitis: Current and future therapies. *Hepatology communications.* 2024. Vol.8(6).e0458p.DOI:https://doi.org/10.1097/HC9.0000000000000458
3. Lv T., Li M., Zeng N., Zhang J., Li S., Chen S. Systematic review and meta-analysis on the incidence and prevalence of autoimmune hepatitis in Asian, European, and American population. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 2019. Vol. 34(10). P. 1676–1684. DOI: https://doi.org/10.1111/jgh.14746
4. Terziroli Beretta-Piccoli B., Mieli-Vergani G., Vergani D. Autoimmmune hepatitis. *Cellular&molecularimmunology.* 2022. Vol. 19(2). P. 158–176. DOI: https://doi.org/10.1038/s41423-021-00768-8
5. Covelli C., Sacchi D., Sarcognato S., Cazzagon N., Grillo F., Baciorri F. Pathology of autoimmune hepatitis. *Pathologica*. 2021. Vol. 113(3). P. 185–193. DOI: https://doi.org/10.32074/1591-951X-241
6. Sucher E., Sucher R., Gradistanac T., Brandacher G., Schneeberger S., Berg T. Autoimmune Hepatitis-Immunologically Triggered Liver Pathogenesis-Diagnostic and Therapeutic Strategies. *Journal of immunology research.* 2019. Vol. 2019. 9437043 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/9437043
7. Schultheiß C., Steinmann S., Lohse A.W., Binder M. B cells in autoimmune hepatitis: bystanders or central players? *Seminars in immunopathology.* 2022. Vol. 44(4). P. 411–427. DOI: https://doi.org/10.1007/s00281-022-00937-5
8. Racanelli V., Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology*. 2006. Vol. 43(Suppl 1). P. S54–S62. DOI: https://doi.org/10.1002/hep.21060
9. Fasano R., Malerba E., Prete M., Solimando A.G., Buonavoglia A., Silvestris N., Leone P., Racanelli V. Impact of Antigen Presentation Mechanisms on Immune Response in Autoimmune Hepatitis. *Frontiers in immunology.* 2022. Vol. 12. 814155 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.814155
10. Autoimmune hepatitis. Nature reviews. *Disease primers.* 2018. Vol. 4. 18018 p. DOI: https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.18
11. Selvarajah V., Montano-Loza A.J., Czaja A.J. Systematic review: managing suboptimal treatment responses in autoimmune hepatitis with conventional and nonstandard drugs. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* 2012. Vol. 36(8). P. 691–707. DOI: https://doi.org/10.1111/apt.12042
12. Lotfy A., Elgamal A., Burdzinska A., Swelum A.A., Soliman R., Hassan A.A., Shiha G. Stem cell therapies for autoimmune hepatitis. *Stem cell research & therapy.* 2021. Vol. 12(1). 386 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s13287-021-02464-w
13. He C., Yang Y., Zheng K., Chen Y., Liu S., Li Y. Mesenchymal stem cell-based treatment in autoimmune liver diseases: underlying roles, advantages and challenges. *Therapeutic advances in chronic disease.* 2021. Vol. 12. 2040622321993442 p. DOI: https://doi.org/10.1177/2040622321993442
14. Wang Y., Chen X., Cao W., Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature immunology.* 2014. Vol. 15(11). P. 1009–1016. DOI: https://doi.org/10.1038/ni.3002
15. Munir H., McGettrick H.M. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease: Risks and Rewards. *Stem cells and development.* 2015. Vol. 24(18). P. 2091–2100. DOI: https://doi.org/10.1089/scd.2015.0008
16. Volarevic V., Markovic B.S., Gazdic M., Volarevic A., Jovicic N., Arsenijevic N. Ethical and Safety Issues of Stem Cell-Based Therapy. *International journal of medical sciences.* 2018. Vol. 15(1). P. 36–45. DOI: https://doi.org/10.7150/ijms.21666
17. Smolinská V., Boháč M., Danišovič Ľ. Current status of the applications of conditioned media derived from mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Physiological research.* 2023. Vol. 72(S3). P. S233–S245. DOI: https://doi.org/10.33549/physiolres.935186
18. Madrigal M., Rao K.S., Riordan N.H. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of translational medicine*. 2014. Vol. 12. 260 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s12967-014-0260-8
19. Rajasingh J., Lambers E., Hamada H., Bord E., Thorne T., Goukassian I. Cell-free embryonic stem cell extract-mediated derivation of multipotent stem cells from NIH3T3 fibroblasts for functional and anatomical ischemic tissue repair. *Circulation research.* 2008. Vol. 102(11). P. e107–e117. DOI: https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.176115
20. Su X., Liu Y., ElKashty O., Seuntjens J., Yamada K.M., Tran S.D. Human Bone Marrow Cell Extracts Mitigate Radiation Injury to Salivary Gland. *Journal of dental research. 2022.* Vol. 101(13). P. 1645–1653. DOI: https://doi.org/10.1177/00220345221112332

REFERENCES

1. Komori A. Recent updates on the management of autoimmune hepatitis. *Clinical and molecular hepatology.* 2021;27(1):58–69. DOI: https://doi.org/10.3350/cmh.2020.0189
2. Reau NS, Lammert CS, Weinberg EM. Autoimmune hepatitis: Current and future therapies. *Hepatology communications.* 2024;8(6):e0458. DOI: https://doi.org/10.1097/HC9.0000000000000458
3. Lv T, Li M, Zeng N, Zhang J, Li S, Chen S. Systematic review and meta-analysis on the incidence and prevalence of autoimmune hepatitis in Asian, European, and American population. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 2019;34(10):1676–84. DOI: https://doi.org/10.1111/jgh.14746
4. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmmune hepatitis. *Cellular & molecular immunology.* 2022;19(2):158–76. DOI: https://doi.org/10.1038/s41423-021-00768-8
5. Covelli C, Sacchi D, Sarcognato S, Cazzagon N, Grillo F, Baciorri F. Pathology of autoimmune hepatitis. *Pathologica*. 2021;113(3):185–93. DOI: https://doi.org/10.32074/1591-951X-241
6. Sucher E, Sucher R, Gradistanac T, Brandacher G, Schneeberger S, Berg T. Autoimmune Hepatitis-Immunologically Triggered Liver Pathogenesis-Diagnostic and Therapeutic Strategies. *Journal of immunology research.* 2019;2019:9437043. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/9437043
7. Schultheiß C, Steinmann S, Lohse AW, Binder M. B cells in autoimmune hepatitis: bystanders or central players? *Seminars in immunopathology.* 2022;4(4):411–27. DOI: https://doi.org/10.1007/s00281-022-00937-5
8. Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology*. 2006;43(21);S54–62. DOI: https://doi.org/10.1002/hep.21060
9. Fasano R., Malerba E., Prete M., Solimando A.G., Buonavoglia A., Silvestris N., Leone P, Racanelli V. Impact of Antigen Presentation Mechanisms on Immune Response in Autoimmune Hepatitis. *Frontiers in immunology.* 2022;12:814155. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.814155
10. Autoimmune hepatitis. Nature reviews. *Disease primers*. 2018;4:18018. DOI: https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.18
11. Selvarajah V, Montano-Loza AJ, Czaja AJ. Systematic review: managing suboptimal treatment responses in autoimmune hepatitis with conventional and nonstandard drugs. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* 2012;36(8):691–707. DOI: https://doi.org/10.1111/apt.12042
12. Lotfy A, Elgamal A, Burdzinska A, Swelum AA, Soliman R, Hassan AA, Shiha G. Stem cell therapies for autoimmune hepatitis. *Stem cell research & therapy*. 2021;12(1):386. DOI: https://doi.org/10.1186/s13287-021-02464-w
13. He C, Yang Y, Zheng K, Chen Y, Liu S, Li Y. Mesenchymal stem cell-based treatment in autoimmune liver diseases: underlying roles, advantages and challenges. *Therapeutic advances in chronic disease*. 2021;12:2040622321993442. DOI: https://doi.org/10.1177/2040622321993442
14. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature immunology.* 2014;15(11):1009–16. DOI: https://doi.org/10.1038/ni.3002
15. Munir H, McGettrick HM. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Autoimmune Disease: Risks and Rewards. Stem cells and development. 2015;24(18):2091–100. DOI: https://doi.org/10.1089/scd.2015.0008
16. Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, Volarevic A, Jovicic N, Arsenijevic N. Ethical and Safety Issues of Stem Cell-Based Therapy. *International journal of medical sciences.* 2018;15(1):36–45. DOI: https://doi.org/10.7150/ijms.21666
17. Smolinská V, Boháč M, Danišovič Ľ. Current status of the applications of conditioned media derived from mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Physiological research*. 2023;72(S3):S233–45. DOI: https://doi.org/10.33549/physiolres.935186
18. Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of translational medicine*. 2014;12:260. DOI: https://doi.org/10.1186/s12967-014-0260-8
19. Rajasingh J, Lambers E, Hamada H, Bord E, Thorne T, Goukassian I. Cell-free embryonic stem cell extract-mediated derivation of multipotent stem cells from NIH3T3 fibroblasts for functional and anatomical ischemic tissue repair. *Circulation research.* 2008;102(11):e107–17. DOI: https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.176115
20. Su X, Liu Y, ElKashty O, Seuntjens J, Yamada KM, Tran SD. Human Bone Marrow Cell Extracts Mitigate Radiation Injury to Salivary Gland. *Journal of dental research.* 2022;101(13):1645–53. DOI: https://doi.org/10.1177/00220345221112332

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

21. Tran S.D., Liu Y., Xia D., Maria O.M., Khalili S., Wang R.W. Paracrine effects of bone marrow soup restore organ function, regeneration, and repair in salivary glands damaged by irradiation. *PLoS One.* 2013. Vol. 8(4). e61632 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061632
22. Su X., Liu Y., Bakkar M., ElKashty O., El-Hakim M., Seuntjens J., Tran S.D. Labial Stem Cell Extract Mitigates Injury to Irradiated Salivary Glands. *Journal of dental research.* 2020. Vol. 99(3). P. 293–301. DOI: https://doi.org/10.1177/0022034519898138
23. Гладких Ф.В. Перспективи застосування імуномодуляторів у лікуванні хворих на аутоімунних захворювань: фокус на екстракти біологічних тканин (кріоекстракт плаценти та кріоекстракт селезінки). *Імунологія та алергологія: наука і практика.* 2023. № 4. С. 29–46. DOI: https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04
24. Гладких Ф.В., Лядова Т.І. Вплив ез клітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у щурів зі змодельованим ад'ювантом Фрейнда артритом. *Health & Education.* 2024. № 1. P. 32–40. DOI: https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4
25. Гладких Ф.В. Динаміка неврологічного дефіциту у щурів зі змодельованим еквівалентом розсіяного склерозу під впливом кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Актуальні проблеми профілактичної медицини.* 2024. № 27. С. 19–28. DOI: https://doi.org/10.32782/2786-9067-2024-27-3
26. Про захист тварин від жорстокого поводження: закон України № 3447-IV. *Відомості Верховної Ради України.* 2006. № 27. 230 с. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text
27. Резніков О.Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. В Першому національному конгресі з біоетики. *Ендокринологія*. 2003. Т. 8, № 1, С. 142–145. URL: https://www.ift.org.ua/sites/default/files/webfiles_document/Rekomindaciji_komitetam.pdf
28. Kohda H., Sekiya C., Kanai M., Yoshida Y., Uede T., Kikuchi K., Namiki M. Flow cytometric and functional analysis of mononuclear cells infiltrating the liver in experimental autoimmune hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology.* 1990. Vol. 82, №. 3. P. 473–478. DOI: http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb05474.x
29. Stils H.F. Adjuvants and antibody production: Dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *Institute for Laboratory Animal Research Journal.* 2005. Vol. 46, №. 3. P. 280–293. DOI: https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280
30. Ганчо О.В. Вплив комплексів пептидів тваринного походження на імунітет за умов норми та різних функціональних станів організму: дис. … к. іол. н., спец. 03.00.13. Полтава, 2002. 170 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0403U003416/
31. Чекман І.С., Поготова Г.А., Небесна Т.Ю. Квантово-фармакологічне дослідження антиоксидантних властивостей і марину. *Український біофармацевтичний журнал.* 2014. № 2. С. 24–28.
32. Avelar C.R., Pereira E.M., Farias Costa P.R., Jesus R.P., Oliveira L.P.M. Effect of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: Systematic review with meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. 2017. Vol. 23, №. 27. P. 5004–5017. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i27.5004
33. Шанайда М.І., Олещук О.М., Лихацький П.Г., Кернична І.З. Дослідження гепатопротекторної активності рідкого екстракту трави Чаберу садового при тетрахлорметановому гепатиті. *Фармацевтичний часопис.* 2017. № 2. С. 91–97. DOI: https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7899
34. Кошурба І.В. Дослідження впливу кріоекстракту плаценти на процеси цитолізу та перекисного оксилення ліпідів за CCl4-індукованого ураження печінки. *Сучасні медичні технології.* 2022. Т. 54, № 3. С. 46–54. DOI: https://doi.org/10.34287/MMT.3(54).2022.9
35. Шепітко В.І. Структурно-функціональні показники криопресервованої печінки та вплив її трансплантації на ис. функціональний стан ряду внутрішніх органів: дис. … д. мед. н.: спец. 14.01.35. Харків, 2004. 326 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/
36. Беспалова І.Г. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів криопресервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят: дис. … к. іол. н.: спец. 03.00.19. Харків, 2016. 162 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/
37. Голубінська П.А., Саричева М.В., Должиков А.А., Бондарєв В.П., Стефанова М.С., Солдатов В.О., Надєждін С.В., Корокін М.В. Застосування секретому мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні ад'ювантного артриту та контактно-алергічного дерматиту в моделях на тваринах. *Pharmacy & Pharmacology.* 2020. № 8(6). P. 416–425. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425
38. Глоба В.Ю. Використання кріопресервованих клітинних культур та нейротрофічних факторів при експериментальному інфравезикальному обструктивному синдромі: дис. … спец. 222. Харків, 2021. 156 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/
39. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. *Київ: Авіцена*, 2001. 527 с. URL: https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77?locale-attribute=en

21. Tran SD, Liu Y, Xia D, Maria OM, Khalili S, Wang RW. Paracrine effects of bone marrow soup restore organ function, regeneration, and repair in salivary glands damaged by irradiation. *PLoS One.* 2013;8(4):e61632. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061632
22. Su X, Liu Y, Bakkar M, ElKashty O, El-Hakim M, Seuntjens J, Tran SD. Labial Stem Cell Extract Mitigates Injury to Irradiated Salivary Glands. *Journal of dental research*. 2020;99(3):293–301. DOI: https://doi.org/10.1177/0022034519898138
23. Hladkykh FV. Prospects for the use of immunomodulators in the treatment of patients with autoimmune diseases: focus on extracts of biological tissues (cryoextract of the placenta and cryoextract of the spleen). *Immunology and allergology: science and practice.* 2023;4:29–46. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04
24. Hladkykh FV, Lyadova TI. Effect of cellular cryopreserved biological agents on the content of individual eicosanoids in rats with simulated Freund's adjuvant arthritis. *Health & Education.* 2024;1:32–40. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4
25. Hladkykh FV. Dynamics of neurological deficits in rats with simulated multiple sclerosis under the influence of cryoextracts of placenta and spleen, as well as conditioned medium of mesenchymal stem cells. *Actual problems of preventive medicine.* 2024;27:19–28. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32782/2786-9067-2024-27-3
26. On the protection of animals from cruel treatment: Law of Ukraine No. 3447-IV. *Information of the Verkhovna Rada of Ukraine.* 2006;27:230. (In Ukrainian). URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text
27. Reznikov OH. General ethical principles of animal experiments. In First National Congress on Bioethics. *Endocrinology*. 2003;8(1):142–5. (In Ukrainian). URL: https://www.ift.org.ua/sites/default/files/webfiles_document/Rekomindaciji_komitetam.pdf
28. Kohda H, Sekiya C, Kanai M, Yoshida Y, Uede T, Kikuchi K, Namiki M. Flow cytometric and functional analysis of mononuclear cells infiltrating the liver in experimental autoimmune hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology.* 1990;82(3):473–8. DOI: http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb05474.x
29. Stils HF. Adjuvants and antibody production: Dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*. 2005;46(3):280–93. DOI: https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.280
30. Hancho O.V. The effect of peptide complexes of animal origin on immunity under normal conditions and different functional states of the body [dissertation]. Полтава. 2002;170. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0403U003416/
31. Chekman IS, Pogotova GA, Nebesna TYu. Quantum-pharmacological study of antioxidant properties and marinade. *Ukrainian biopharmaceutical journal.* 2014;2:24–8. (In Ukrainian).
32. Avelar CR, Pereira EM, Farias Costa PR, Jesus RP, Oliveira LPM. Effect of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: Systematic review with meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology.* 2017;23(27):5004–17. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i27.5004
33. Shanaida MI, Oleschuk OM, Lykhatskyi PG, Kernychna IZ. Study of the hepatoprotective activity of the liquid extract of the garden sage herb in tetrachloromethane hepatitis. *Pharmaceutical journal*. 2017;2:91–7. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7899
34. Koshurba IV. Study of the effect of placenta cryoextract on the processes of cytolysis and lipid peroxidation during CCl4-induced liver damage. *Modern medical technologies.* 2022;54(3):46–54. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.34287/MMT.3(54).2022.9
35. Shepitko V.I. Structural and functional indicators of the cryopreserved liver and the effect of its transplantation on is. functional state of a number of internal organs [dissertation]. Kharkiv. 2004;326. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/
36. Bespalova IH. Peptide composition and biological action of extracts of cryopreserved pig spleen fragments and piglet skin [dissertation]. Kharkiv. 2016;162. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0416U004539/
37. Golubinska PA, Sarycheva MV, Dolzhikov AA, Bondarev VP, Stefanova MS, Soldatov VO, Nadezhdin SV, Korokin MV. Application of the secretome of multipotent mesenchymal stem cells in the treatment of adjuvant arthritis and contact allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology.* 2020;8(6):416–25. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425
38. Globa V.Yu. Use of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstructive syndrome [dissertation]. Kharkiv. 2021;156. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/
39. Stefanov OV. Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations. *Kyiv: Avicenna*, 2001;527. (In Ukrainian). URL: https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77?locale-attribute=en

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

40. Asakawa T., Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980. Vol. 15(3). P. 137–140.
41. Aebi H. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 1984. Vol. 105. P. 121–126. DOI: https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3
42. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
43. Чевари С., Чаба., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных материал клетки и метод определения ее в биологических матеріалах. *Лабораторное дело.* 1985. № 11. С. 678–681.
44. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. *МЕДпресс-информ*, 2009. 896 с.
45. Tokuda K., Tanimoto K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. *Japanese Journal of Clinical Chemistry.* 1993. Vol. 22(2). P. 116–122.
46. Vink K.L., Schuurman W., van Gansewinkel R. Use of the caffeine reagent in direct spectrophotometry of bilirubin. *Clinical Chemistry.* 1986. Vol. 32(7). P. 1389–1393.
47. Zar J.H. Biostatistical analysis. 5th ed. *Englewood: Prentice-Hall*, 2014. 960 p.
48. Kalas M.A., Chavez L., Leon M., Taweesedt P.T., Surani S. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians. *World journal of hepatology.* 2021. Vol. 13(11). P. 1688–1698. DOI: https://doi.org/10.4254/wjh.v13.i11.1688
49. Zgheib H., Wakil C., Shayya S., Mailhac A., Al-Taki M., El Sayed M., Tamim H. Utility of liver function tests in acute cholecystitis. *Annals of hepato-biliary-pancreatic surgery.* 2019. Vol. 23(3). P. 219–227. DOI: https://doi.org/10.14701/ahbps.2019.23.3.219
50. Pemberton P.W., Aboutwerat A., Smith A., Burrows P.C., McMahon R.F., Warnes T.W. Oxidant stress in type I autoimmune hepatitis: the link between necroinflammation and fibrogenesis? *Biochimica et biophysica acta.* 2004. Vol. 1689(3). P. 182–189. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.01.005
51. Ra K., Park S.C., Lee B.C. Female Reproductive Aging and Oxidative Stress: Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium as a Promising Antioxidant. *International journal of molecular sciences.* 2023. Vol. 24(5). 5053 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms24055053
52. Гладких Ф.В. Характеристика впливу з клітинних кріоконсервованих біологічних засобів на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз у тканинах серця на моделі аутоімунного міокардиту. *Health & Education.* 2024. № 2. P. 23–30. DOI: https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4
53. Кошурба І.В., Гладких Ф.В., Чиж М.О. Модуляція ліпопероксидації та енергетичного обміну в слизовій оболонці шлунка як механізм активності кріоекстракту плаценти в загоєнні стрес-індукованого ерозивно-виразкового ушкодження. *Гастроентерологія*. 2022. № 56(3). С. 149–155. DOI: https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503

40. Asakawa T, Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980;15(3):137–40.
41. Aebi H. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 1984;105:121–6. DOI: https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3
42. Koroliuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE. Method for determining catalase activity. *Laboratory work*. 1988;1:16–9. (In Ukrainian).
43. Chevary S, Chaba, Sekei Y. The role of superoxide dismutase in the oxidizing material of the cell and the method of determining it in biological materials. *Laboratory work*. 1985;11:678–81. (In Ukrainian).
44. Kamyshnikov VS. Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnostics. *MEDpress-inform,* 2009;896. (In Ukrainian).
45. Tokuda K, Tanimoto K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. *Japanese Journal of Clinical Chemistry.* 1993;22(2):116–22.
46. Vink KL, Schuurman W, van Gansewinkel R. Use of the caffeine reagent in direct spectrophotometry of bilirubin. *Clinical Chemistry.* 1986;32(7):1389–93.
47. Zar JH. Biostatistical analysis. 5th ed. Englewood: *Prentice-Hall,* 2014;960.
48. Kalas MA, Chavez L, Leon M, Taweesedt PT, Surani S. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians. *World journal of hepatology.* 2021;13(11):1688–98. DOI: https://doi.org/10.4254/wjh.v13.i11.1688
49. Zgheib H, Wakil C, Shayya S, Mailhac A, Al-Taki M, El Sayed M, Tamim H. Utility of liver function tests in acute cholecystitis. *Annals of hepato-biliary-pancreatic surgery.* 2019;23(3)6219–27. DOI: https://doi.org/10.14701/ahbps.2019.23.3.219
50. Pemberton PW, Aboutwerat A, Smith A, Burrows PC, McMahon RF, Warnes TW. Oxidant stress in type I autoimmune hepatitis: the link between necroinflammation and fibrogenesis? *Biochimica et biophysica acta.* 2004;1689(3):182–9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.01.005
51. Ra K, Park SC, Lee BC. Female Reproductive Aging and Oxidative Stress: Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium as a Promising Antioxidant. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(5):5053. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms24055053
52. Hladkykh FV. Characterization of the effect of cellular cryopreserved biological agents on antioxidant-prooxidant homeostasis in heart tissues in a model of autoimmune myocarditis. *Health & Education.* 2024;2:23–30. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32782/health-2024.2.4
53. Koshurba IV, Gladkikh FV, Chizh MO. Modulation of lipoperoxidation and energy metabolism in the gastric mucosa as a mechanism of placenta cryoextract activity in the healing of stress-induced erosive-ulcerative injury. *Gastroenterology*. 2022;56(3):149–55. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503

Перспективи подальших досліджень / Prospects for further research

Встановлені антиоксиданті властивості досліджуваних БКБЗ, на тлі їх здатності нормалізувати пігментний обмін у тварин з експериментальним аутоімунним ураженням печінки, вказує на доцільність подальших досліджень гепатопротекторної активності вказаних біотехнологічних засобів, у тому числі на тлі аутоімунних захворювань.

The established antioxidant properties of the studied ACBAs, alongside their ability to normalize pigment metabolism in animals with experimental autoimmune liver damage, indicate the need for further research into the hepatoprotective activity of these biotechnological agents, including in the context of autoimmune 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, biomedical device manufacturers, or other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject of the submitted 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,

The article is a fragment of the planned research work of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology at V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, titled «Studying the Role of Immune, Autoimmune, and Metabolic Disorders in the Pathogenesis and Consequences of Infectious Processes

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

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.

Caused by Bacteria, Viruses, and Viral-Bacterial Associations in Acute, Prolonged, and Chronic Disease Progression, and Improving Treatment Tactics», state registration number 0123U105022, execution period: 2023–2028, head – the department chair of Infectious Diseases and Clinical Immunology, PhD in Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuyeva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

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: *ідея дослідження, розробка дизайну, підбір літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних, написання тексту статті.*

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) 692-56-41

Внесок автора: *підбір літературних джерел, участь в обговоренні результатів роботи, редагування тексту статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

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 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: *research idea, design development, selection of literary sources, conducting experimental studies, statistical processing of the obtained data, writing the text of the article.*

Liadova Tetyana Ivanivna – Doctor of Medical Sciences (DSci, PhD), Full Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Dean 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: t.lyadova@karazin.ua

tel.: +38 (050) 692-56-41

Author's contribution: *selection of literary sources, participation in the discussion of work results, editing of the text of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 06.06.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.08.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 290–305
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):290–305

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-02
УДК: 616.12-008.313:616.33/.342-002]-053.6

Аналіз результатів холтерівського моніторування у підлітків з хронічною запальною патологією верхніх відділів шлунково-кишкового тракту

Крутенко Н.В.[1], http://orcid.org/0000-0002-3236-0057, e-mail: n.v.krutenko@karazin.ua
Шевченко Н.С.[1,2], https://orcid.org/0000-0003-4407-6050, e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua
Зімницька Т.В.[1], http://orcid.org/0000-0002-9381-4075, e-mail: zimnytska@karazin.ua
Волошин К.В.[1], http://orcid.org/0000-0001-8262-5159, e-mail: konstantin.voloshin@karazin.ua
Тараненко О.Б.[2], http://orcid.org/0009-0008-0257-6608, e-mail: taranenko441@gmail.com
Павлова О.С.[1], https://orcid.org/0000-0003-2365-4827, e-mail: pavlova@karazin.ua
Кварацхелія Т.М.[2], https://orcid.org/0009-0004-4468-4210, e-mail: dr.tamriko76@gmail.com

[1]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Holter monitoring results in adolescents with chronic inflammatory pathology of the upper gastrointestinal tract

Krutenko N.V.[1], http://orcid.org/0000-0002-3236-0057, e-mail: n.v.krutenko@karazin.ua
Shevchenko N.S.[1,2], https://orcid.org/0000-0003-4407-6050, e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua
Zimnytska T.V.[1], http://orcid.org/0000-0002-9381-4075, e-mail: zimnytska@karazin.ua
Voloshyn K.V.[1], http://orcid.org/0000-0001-8262-5159, e-mail: konstantin.voloshin@karazin.ua
Taranenko O.B.[2], http://orcid.org/0009-0008-0257-6608, e-mail: taranenko441@gmail.com
Pavlova O.S.[1], https://orcid.org/0000-0003-2365-4827, e-mail: pavlova@karazin.ua
Kvaratskheliya T.M.[2], https://orcid.org/0009-0004-4468-4210, e-mail: dr.tamriko76@gmail.com

[1]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]State Institution «Institute of Health Care of Children and Adolescents of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

підлітки, шлунково-кишковий тракт, серцево-судинна система, аритмії, холтерівське моніторування.

Для кореспонденції:

Крутенко Наталія Володимирівна
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра педіатрії;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: n.v.krutenko@karazin.ua

© Крутенко Н.В., Шевченко Н.С., Зімницька Т.В., Волошин К.В., Тараненко О.Б., Павлова О.С., Кварацхелія Т.М., 2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Хронічна запальна патологія верхніх відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) у підлітковому віці може супроводжуватися появою кардіальних скарг та електрофізіологічними змінами міокарда. Враховуючи сучасні методи оцінки серцево-судинної діяльності та нові перегляди підходів до сучасної терапії основного захворювання ШКТ, функціональний стан серця потребує подальшого уточнення.
Мета роботи – уточнення характеру та частоти змін холтерівського моніторування електрокардіограми (ХМ ЕКГ) серця у підлітків з хронічною запальною патологією верхніх відділів ШКТ і визначення значущості супутніх станів (синдром доброякісної лікворної гіпертензії, синдром вегетативної дисфункції та недиференційованої дисплазії сполучної тканини) щодо їх виникнення.
Матеріали та методи. Обстежено 69 підлітків з хронічним запальним процесом ШКТ. Групу контролю склали 36 осіб без патологічних станів з боку ШКТ. Враховувалася наявність найбільш поширених супутніх захворювань: синдром доброякісної внутрішньочерепної гіпертензії (СДВЧГ), синдром вегетативної дисфункції (СВД), недиференційована дисплазія сполучної тканини (НДСТ). Усім пацієнтам проводили обстеження серцево-судинної системи, стандартну 12-канальну ЕКГ, ХМ ЕКГ з урахуванням даних щоденника самопочуття, ехокардіографічне дослідження серця (ЕхоКГ).
Результати та їх обговорення. Частота змін ХМ на ЕКГ була більшою у підлітків із запальними захворюваннями ШКТ, порівняно з однолітками контрольної групи (72,46% проти 52,78 відповідно, $p < 0,05$). Порушення формування імпульсу спостерігалося у 71,01% випадків, порушення інтервалу ST-T і зубця Т були

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

у 60,87% підлітків, комбіновані порушення ритму – у 13,04% випадків, порушення серцевої провідності – у 18,84%. Синусова тахікардія та комбіновані порушення ритму достовірно частіше виявлялася серед хворих дівчат (pφ < 0,05). У дітей із гастроезофагеальною рефлюксною хворобою (ГЕРХ) зміни автоматизму та сегменту ST за результатами ХМ ЕКГ спостерігалися частіше, ніж у дітей із хронічним гастродуоденітом (ХГД) (85,71% проти 65,91; pφ < 0,05). У 85,51% випадків аритмії були доброякісними. Частота їх виявлення не залежала від патологічного стану ШКТ. Результати аналізу ймовірності впливу супутніх захворювань або їх поєднання на розвиток аритмій у пацієнтів не досягли рівня статистичної значущості (p > 0,05).
Висновки. У підлітків з хронічними запальними захворюваннями шлунково-кишкового тракту частіше реєструються різноманітні біоелектричні ЕКГ явища. Серед них найчастіше виявляються порушення автоматизму, провідності та реполяризації міокарда шлуночків. У пацієнтів жіночої статі достовірно частіше виявляли синусову тахікардію та комбіновані порушення ритму. Порушення автоматизму серця було більш характерно для хворих на ГЕРХ. Несприятливі варіанти аритмій зареєстровані у 14,49% підлітків. Встановлено, що такі супутні стани, як синдром доброякісної ліквороної гіпертензії, синдром вегетативної дисфункції та недиференційованої дисплазії сполучної тканини, не мають достовірно більшого впливу щодо шансів виникнення порушень функціонального стану серця у дітей із патологією ШКТ.

Для цитування:

Крутенко Н.В., Шевченко Н.С., Зімницька Т.В., Волошин К.В., Тараненко О.Б., Павлова О.С., Кварацхелія Т.М. Аналіз результатів холтерівського моніторування у підлітків з хронічною запальною патологією верхніх відділів шлунково-кишкового тракту. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 290–305. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-02

Key words:

gastrointestinal tract, cardiovascular system, arrhythmias, Holter monitoring, adolescents.

For correspondence:

Krutenko Nataliia Volodymyrivna
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Pediatrics;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: n.v.krutenko@karazin.ua

© *Krutenko N.V., Shevchenko N.S., Zimnytska T.V, Voloshyn K.V, Taranenko O.B., Pavlova O.S., Kvaratskheliya T.M., 2024*

ABSTRACT

Background. Upper gastrointestinal tract (GIT) chronic disorders in adolescence may be accompanied by the cardiac complaints and electrophysiological changes in the myocardium. Considering of cardiovascular activity assessment modern methods and new way of gastrointestinal tract disease therapy management, heart functional state needs further clarification.
Purpose. Clarifying the nature and frequency of changes in the heart Holter ECG monitoring (HM ECG) in adolescents with chronic inflammatory pathology of the upper gastrointestinal tract and determining the significance of concomitant conditions (benign CSF hypertension syndrome, autonomic dysfunction syndrome, and undifferentiated connective tissue dysplasia) in relation to their occurrence.
Materials and methods. 69 adolescents with chronic inflammatory process of the GIT were examined. Control group included 36 children without GIT disorders. Presence of the most common concomitant diseases: benign intracranial hypertension syndrome (BIHS), autonomic dysfunction syndrome (ADS), undifferentiated connective tissue dysplasia (UCTD), were considered. Cardiovascular system examination, standard 12-channel resting ECG (electrocardiography), HM ECG considering the data of the well-being diary, heart echocardiographic examination (EchoCS) was provided for all patients.
Results. The frequency of HM ECG changes was more common among adolescents with inflammatory diseases of the GIT patients compared to the peers of the control group (72.46% vs. 52.78, respectively, p < 0,05). Impaired impulse formation was observed in 71.01% of cases, the ST-T interval and T wave abnormalities were present in 60.87% of adolescents, combined rhythm disorders – in 13.04% of cases, cardiac conduction disorders – in 18.84%. Sinus tachycardia and combined rhythm disturbances were significantly more frequently detected among female patients (pφ < 0.05). Impaired impulse formation was recorded significantly more often in children with gastroesophageal reflux disease (GERD) than in children with chronic gastritis (85.71% vs 65.91; p < 0.05). Arrhythmias were benign in 85.51% of cases. The frequency of their detection did not depend on the clinical variant of the gastrointestinal tract disease. The analysis results of the influence probability of concomitant diseases or their combination on the development of arrhythmias in patients did not reach the level of statistical significance (p > 0.05).
Conclusions. In adolescents with chronic diseases of the gastrointestinal tract, various bioelectrical ECG phenomena are more often registered. Among them, there is a violation of automatism, conduction and repolarization of the myocardium of the ventricles. Sinus tachycardia and combined rhythm disturbances were significantly more common in girls. Violation of the automated heart was more typical for patients with GERD. Unfavorable variants of arrhythmias were registered in 14.49% of teenagers. It was established that such concomitant conditions as benign CSF hypertension, autonomic

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

dysfunction syndrome and undifferentiated connective tissue dysplasia do not have a significantly greater influence on the development of functional heart disorders in children with gastrointestinal tract pathology.

For citation:

Krutenko NV, Shevchenko NS, Zimnytska TV, Voloshyn KV, Taranenko OB, Pavlova OS, Kvaratskheliya TM. Holter monitoring results in adolescents with chronic inflammatory pathology of the upper gastrointestinal tract. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):290–305. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-02

ВСТУП

У середині минулого століття клініцисти відзначили наявність кардіальних скарг у пацієнтів із захворюваннями шлунково-кишкового тракту (ШКТ), що Людвігом Ремхельдом було об'єднано терміном «гастрокардіальний синдром» (синдром Ремхельда) [1]. Вивчення патогенетичних механізмів даного синдрому довели значущість передсердно-стравохідного анатомічного зв'язку, місцевого запального процесу, що призводить до локальних вогнищ перикардиту або міокардиту; іритації періезофагеального нервового сплетіння із залученням езофагеальних судин та лімфатичних вузлів; надлишкової іритації *nervus vagus* [2, 7]. Був доведений потенційний взаємозв'язок між патологією ШКТ, зокрема гастроезофагеальною рефлюксною хворобою (ГЕРХ), та розвитком миготливої аритмії, фібриляції передсердь [3–6].

Незважаючи на багаторічне вивчення проблеми і визначення основних шляхів реалізації гастрокардіального синдрому, інтерес до досліджень стану міокарда при різних захворюваннях ШКТ не зменшується, а в 20-х роках XXI століття знов підвищився [3–6], що пов'язано із вивченням нових маркерів залучення міокарда і розкриттям інтимних механізмів ураження серцево-судинної системи [7].

На сучасному етапі захворюваність дітей на патологію ШКТ зберігає тенденцію до зростання частоти та хронізації процесу [8]. В умовах воєнного стану, який зараз триває в Україні, саме ця система першою відповідає на тривалий стрес [9], що створює додаткові ризики для погіршення стану серцево-судинної системи (ССС).

Вивчення даних питань в осіб молодого віку, зокрема у дітей, показало більшу кількість дітей з артеріальною гіпертензією, із порушеннями ритму, гірші результати фізичної працездатності при виконанні проби Руф'є серед дітей з патологією ШКТ. Але більшою мірою дані зміни пов'язують не з наявністю органічної патології травного тракту, а з особливостями вегетативної дизрегуляції як серцево-судинної, так і травної системи [10]. В той же час саме підлітковий вік супроводжується вираженими змінами фізіологічного становлення автономної нервової системи, що утруднює відокремлення саме патологічних змін з боку функціонування міокарда. Додатково на ці процеси можуть впливати анамнестичні події з боку нервової системи та наявність диспластичних змін серця.

Мета роботи – уточнення характеру та частоти змін ХМ ЕКГ серця у підлітків з хронічною запальною патологією верхніх відділів ШКТ і визначення значущості супутніх станів (синдром доброякісної ліквор-

INTRODUCTION

In the middle of the last century, clinicians noted the presence of cardiac complaints in patients with diseases of the gastrointestinal tract (GI), which Ludwig Remheld combined with the term «gastrocardial syndrome» (Remheld syndrome) [1]. The study of the pathogenetic mechanisms of this syndrome proved the importance of the atrial-esophageal anatomical connection, the local inflammatory process, which leads to local foci of pericarditis or myocarditis; irritation of the periesophageal nerve plexus with involvement of esophageal vessels and lymph nodes; excessive irritation of the vagus nerve [2, 7]. A potential relationship between gastrointestinal tract pathology, in particular gastroesophageal reflux disease (GERD), and the development of atrial fibrillation and atrial fibrillation has been proven [3–6].

Despite on studying this problem for many years and determining the main ways of realizing the gastrocardiac syndrome, the research interest in the condition of the myocardium in gastrointestinal diseases does not decrease and in the 20s of the 21st century it increased again [3–6]. This is related to the study of new markers of myocardial involvement and the disclosure of intimate mechanisms of the cardiovascular system damage [7].

At the current stage, the incidence of gastrointestinal tract pathology in children maintains a tendency towards growth and chronicity of the process [8]. During the state of war, which is currently ongoing in Ukraine, this system is the first to respond to prolonged stress [9], which creates additional risks for the deterioration of the cardiovascular system.

The study of these issues in young people, including children, showed a greater number of children with arterial hypertension, with rhythm disorders, as well as worse results of physical adaptation when performing the Ruffier test, among children with gastrointestinal tract pathology.

But to a greater extent, these changes are associated not with the presence of organic pathology of the digestive tract, but with the features of autonomic dysregulation of both the cardiovascular and digestive systems [10]. At the same time, adolescence itself is accompanied by pronounced changes in the physiological development of the autonomic nervous system, which makes it difficult to separate pathological changes from the functioning of the myocardium. In addition, these processes can be affected by anamnestic events from the nervous system and the presence of dysplastic changes in the heart.

Objective – was clarifying the nature and frequency of changes in the heart Holter ECG monitoring (HM ECG) in adolescents with chronic inflammatory pathology of the upper gastrointestinal tract and determining the

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ної гіпертензії, синдром вегетативної дисфункції та недиференційованої дисплазії сполучної тканини) щодо їх виникнення.

significance of concomitant conditions (benign CSF hypertension syndrome, autonomic dysfunction syndrome, and undifferentiated connective tissue dysplasia) in relation to their occurrence.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження було залучено 69 підлітків віком від 11 до 18 років обох статей (середній вік склав 13,5 ± 4,5 років), які перебували у відділенні педіатрії та реабілітації Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» та в Комунальному некомерційному підприємстві «Міська дитяча клінічна лікарня № 19» з приводу хронічних запальних уражень ШКТ. Діагноз захворювання ставився відповідно до уніфікованого клінічного протоколу діагнос-тики та лікування хвороб органів травлення у дітей (Наказ Міністерства охорони здоров'я України №59 від 29.01.2013).

Критерії включення до дослідження: вік підлітків від 11 до 18 років, хворі на хронічний гастродуоденіт (ХГД), езофагіт, ГЕРХ, виразкову хворобу шлунка (ВХШ) або дванадцятипалої кишки (ДПК), тривалість захворювання більше двох років.

Критерії виключення: молодший вік, особи з органічними ураженнями ССС, центральної нервової системи та вродженими вадами ШКТ.

Дослідження проводилося відповідно до вимог біоетики з дотриманням положень Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено локальним етичним комітетом (протокол засідання №4 від 14.02.2024 р.). На проведення досліджень отримано інформовану згоду батьків/опікунів дітей віком до 14 років та згоду дітей віком старше 14 років.

В основну групу увійшли переважно хлопчики (n = 41; 59,42%) та діти старше 15 років (n = 46; 66,67%) хворі на хронічний гастродуоденіт, ГЕРХ, виразкову хворобу шлунка або дванадцятипалої кишки. Обтяжений сімейний анамнез щодо захворювань травневої системи мали 79,71% дітей. Супутня патологія у підлітків основної групи була представлена синдромом вегетативної дисфункції (СВД) пубертатного періоду, доброякісної внутрішньочерепної гіпертензії (СДВЧГ), функціональних розладів біліарного тракту, недиференційованої системної сполучнотканинної дисплазії (СНДСТ) з наявністю малих аномалій розвитку серця. Зазначені відхилення мали функціональний характер.

Отримані результати порівнювали з групою контролю, яка включала 36 однолітків (середній вік склав 13,0 ± 4,0 років), переважно хлопців (n = 26; 72,22%), у яких не було запальних змін з боку ШКТ. Всі діти перебували в зазначених установах з приводу поглибленого медичного обстеження. У 24 осіб (66,67%) групи контролю не встановлено значущих відхилень у стані здоров'я, що дозволило їх віднести до групи практично здорових. Дванадцять підлітків цієї групи мали функціональні зміни з боку нервової системи у вигляді ВСД пубертатного періоду, які були обстежені відповідними спеціалістами та не потребували лікування.

Усім пацієнтам і дітям контрольної групи було проведено загально-клінічне обстеження ССС та ШКТ. Функціональний стан серцево-судинної системи

MATERIALS AND METHODS

69 adolescents aged from 11 to 18 years (average age was 13.5 ± 4.5 years) of both sexes were observed. Children were treated in the Department of Pediatrics and Rehabilitation of the State Institution «Institute of Health for Children and Adolescents of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» and the City Children's Clinical Hospital № 19 regarding chronic inflammatory lesions of the gastrointestinal tract. Disease diagnosis was carried out in accordance with the unified clinical protocol for the diagnosis and treatment of the digestive system diseases in children (Order of the Ministry of Health of Ukraine № 59, 01/29/2013).

Inclusion criteria: adolescents aged 11 to 18 years, patients with chronic gastroduodenitis, esophagitis, GERD, peptic ulcer disease of the stomach or duodenum, duration of the disease more than two years.

Exclusion criteria: younger age, persons with organic lesions of the cardiovascular system, central nervous system and congenital defects of the gastrointestinal tract.

The study was conducted in accordance with the requirements of bioethics, in compliance with the provisions of the Declaration of Helsinki. The research protocol was approved by the local ethics committee (meeting protocol No. 4 dated February 14, 2024). Informed consent of parents/guardians of children under 14 years of age and consent of children over 14 years of age was obtained for conducting research.

The main group included mainly boys (n = 41; 59.42%) and children over 15 years old (n = 46; 66.67%). 79.71% of children had GI pathology in the family anamnesis. Some children also had autonomic dysfunction syndrome (ADS) of puberty, benign intracranial hypertension (BIHS), functional disorders of the biliary tract, undifferentiated connective tissue dysplasia (UCTD) with the presence of minor cardiac anomalies.

Obtained results were compared with a control group that included 36 peers (average age was 13.0 ± 4.0 years), mostly boys (n = 26; 72.22%), who had no changes in the gastrointestinal tract. 66.94% of children had no significant disorders so they were classified as practically healthy. Other adolescents had nervous system functional changes mostly ADS during puberty and did not require any treatment.

All patients and children in the control group underwent a general clinical examination of the cardiovascular system and gastrointestinal tract. The functional state of the cardiovascular system was studied using electrocardiography on a multi-channel electrocardiograph EK-34-01 at rest in 12 standard leads with assessment of heart rate (HR), rhythm, QRS axis, PR, ST, QT/QTc interval and repolarization processes. After the ECG assessment, all patients underwent daily ECG monitoring using the CONTEC TLC5000 device with the ECG Holter System_TF(OS) V5.5.2.5 software with determination of the average daily, minimum and maximum heart rate, rhythm analysis, ST segment level, calculation of the density of prema-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

вивчався за допомогою електрокардіографії на багатоканальному електрокардіографі ЕК – 34-01 в стані спокою в 12 стандартних відведеннях із оцінюванням частоти серцевих скорочень (ЧСС), ритму, вісі QRS, інтервалу PR, ST, QT/QTc та процесів реполяризації. Після оцінки ЕКГ всім пацієнтам проводилося добове моніторування ЕКГ (ХМ ЕКГ) за допомогою апарата CONTEC TLC5000 з програмним забезпеченням ECG Holter System_TF(OS) V5.5.2.5 із визначенням середньодобової, середньоденної, мінімальної, максимальної частоти серцевих скорочень (ЧСС), аналізом ритму, сегменту ST, підрахунком щільності передчасних комплексів при їх виявленні, інтервалу QTc (вимір тривалості інтервалу проводився тангенціальним методом). Ультразвукове та допплерівське дослідження серця (ЕхоКГ, допплер-ЕхоКГ) проводилося в М- та В-режимах, а також у режимі постійно-хвильового й кольорового сканування конвексним датчиком частотою 5 МГц на апараті цифрової системи ультразвукової діагностики SA-8000 Live (фірми «Medison», Корея) за стандартною методикою з оцінкою структурних (кінцево-систолічний розміри правого та лівого шлуночків, товщина перегородок, стан клапанів) та функціональних параметрів (фракція викиду лівого шлуночка, ударний об'єм, хвилинний об'єм, ЧСС).

Відеоезофагогастродуоденоскопію (ВЕГДС) виконано пацієнтам за допомогою ендоскопічної відеосистеми Olympus CV-140 та відеогастроскопу Olympus GIF P-140. Оцінка pH проводилась із використанням індикатора кислотності шлунка ІКЖ-2 при проведенні ВЕГДС, вимірювалися значення pH у стравоході, тілі та антральному відділі шлунка. Гелікобактерна інфекція визначалась уреазним тестом для визначення H.pylori в біоптаті (URE-test).

Лікування пацієнтам основної групи проводилося відповідно до протоколів діагностики та лікування за спеціальністю «Дитяча гастроентерологія» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 59 від 29.01.2013 року).

Статистична обробка матеріалу виконувалась за допомогою пакетів програм Microsoft Office, Statgrafics-5, визначали середні показники для з'ясування закономірностей змін, використовувались критерії *t* Стьюдента і кутового перетворення Фішера (φ). При порівнянні двох значень різниця між ними вважалася значущою на рівні $p < 0,05$. Для вирішення поставленої мети було проведено аналіз факторів ризику з визначенням критерію χ^2 під час аналізу таблиць спряженості, відношення шансів (ВШ), 95% довірчого інтервалу (95% ДІ). За рівень значущості (α) у порівнянні статистичних гіпотез приймалася ймовірність відхилення нульової гіпотези за її правильності 5% ($\alpha = 0,05$).

ture complexes at their detection, the QTc interval (measurement of the duration of the interval was carried out by the tangential method). Ultrasound and Doppler examination of the heart (EchoKG, Doppler-EchoKG) was carried out in M- and B-modes, as well as in the mode of continuous wave and color scanning with a convex sensor with a frequency of 5 MHz on the device of the digital ultrasound diagnostic system SA-8000 Live (Medison, Korea) according to the standard method with assessment of structural (end-systolic dimensions of the right and left ventricles, septal thickness, valve condition) and functional parameters (left ventricular ejection fraction, stroke volume, minute volume, heart rate).

Video esophagogastroduodenoscopy (VEGDS) was performed on patients using an Olympus CV-140 endoscopic video system and an Olympus GIF P-140 video gastroscope. The pH was estimated using the gastric acidity indicator IKZh-2 during VEGDS, the pH values were measured in the esophagus, body, and antral part of the stomach. Helicobacter infection was determined by the urease test for determining H. Pylori in a biopsy (URE-test).

Protocols of diagnosis and treatment in the specialty «Pediatric gastroenterology» (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 59 of 01.29.2013) were used for the treatment of patients of the main group.

Statistical processing was carried out using Microsoft Office and Statgrafics-5 software packages, Student's *t* criteria and Fisher's angular transformation (φ) were used. When comparing two values, the difference between them was considered significant at the level of $p < 0.05$. To achieve the stated goals, an analysis of risk factors was carried out with the determination of the χ^2 criterion when analyzing contingency tables, odds ratio (OR), 95% confidence interval (95% CI). The level of significance (α) in the comparison of statistical hypotheses was taken as the possibility of rejecting the null hypothesis with its correctness of 5% ($\alpha = 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед патологічних станів ШКТ у підлітків переважав хронічний гастродуоденіт (n = 44; 63,77%, p < 0,05). ГЕРХ діагностовано у 21 (30,43%) дітей, у 4 (5,80%) дітей виявлено ВХШ/ДПК у період загострення. Дефіцит маси тіла виявлено у шістнадцяти осіб (23,19%), надлишкова вага – у 12 (18,18%) дітей. Домінуючою скаргою дітей (n = 51; 73,91%) був помірний біль у животі епігастраль-

RESULTS AND DISCUSSION

Among the GIT pathological conditions, chronic gastroduodenitis (CGD) predominated (n = 44; 63.77%, p < 0.05). GERD was diagnosed in 21 (30.43%) children, 4 (5.80%) children were diagnosed with gastric or duodenal ulcer during an exacerbation. The dominant complaint of children (n = 51; 73.91%) was moderate abdominal pain of epigastric (n = 47; 68.12%), meso-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ної (n = 47; 68,12%), мезогастральної (n = 11; 15,94%) та загрудинної (n = 6; 8,70%) локалізації. Діти вказували на зв'язок виникнення больового синдрому з прийомами їжі (n = 44; 63,77%). Також захворювання супроводжувалося нудотою (n = 38; 55,07%), відрижкою (n = 26; 37,68%), печією (n = 23; 37,68%), блюванням (n = 12; 17,39%).

За даними ВЕГДС у дітей з хронічним гастродуоденітом переважали зміни недеструктивного характеру, які розвивалися переважно на тлі підвищеної кислотоутворюючої функції шлунка (n = 49; 71,71%). HP (Helicobacter Pylori) – позитивність виявлена у 34,78% (n = 24) дітей з хронічним гастродуоденітом. Ендоскопічні зміни у пацієнтів з ГЕРХ включали катаральні зміни слизової стравоходу (I-II ст. за G.Tytgat) у 85,71% (n = 18) дітей, поліп шлунково-стравоходного переходу мав один підліток з ерозивною формою ГЕРХ, ендоскопічно негативна форма була діагностована у 9,52% (n = 2) підлітків. Ознаки гастроезофагеального рефлюксу в поєднанні з інфікованістю HP виявилися у 42,86% (n = 9) випадків, гіперацидний стан секреції у 85,71% (n = 18) випадків.

У частини пацієнтів (n = 23; 33,33%) поєднання ГЕРХ та гастродуоденіту характеризувалося наявністю ерозивних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки на тлі застійної гастродуоденопатії і дуодено-гастрального рефлюксу II-III ступеня. У дітей основної групи з деструктивними змінами ШКТ 40,58% випадків були асоційовані з HP інфікованістю.

Дослідження стану ССС у підлітків основної групи виявило наявність скарг як загального неспецифічного характеру на швидку втомлюваність та слабкість (n = 19; 27,54%), так і на специфічні – на задишку при незначному фізичному навантаженні (n = 9; 13,04%), нерегулярне або прискорене серцебиття (n = 11; 15,94%), біль або поколювання у перикардіальній ділянці, які зафіксовано у п'ятої частини хворих. У такої ж частини пацієнтів (n = 10; 14,49%) зафіксовані пресинкопальні або синкопальні епізоди без чітких причин протягом останніх п'яти років. Синкопальні стани після комплексного обстеження були розцінені як короткочасні вегетативні реакції, характерні для підліткового віку.

За даними проведеного стандартного ЕКГ дослідження у 39 дітей (56,52%) виявлені різноманітні відхилення: синусова аритмія (n=32; 46,38%), синусова тахікардія (n=2; 2,90%), брадикардія (n=12; 17,39%), неповна блокада правої ніжки пучка Гіса (НБПНПГ) (n=7; 10,14%), синдром «уповільнення збудження правого надшлуночкового гребінця» (n=5; 7,25%), міграція передсердного водія ритму (МВР) (n=5; 7,25%), які можуть вважатися фізіологічними для підліткового віку. Серед патологічних ознак встановлена наявність нижньопередсердних ритмів (n = 2; 2,90%) та порушень реполяризації міокарда шлуночків (n=3; 4,35%).

Результати ЕхоКГ 85,51% (n = 59) підлітків були в межах фізіологічної норми. Серед них малі структурні аномалії розвитку серця (МАРС) діагностовано у 78,26% (n = 54) дітей цієї групи, що свідчить про високу частоту проявів недиференційної сполучно-тканинної дисплазії. При цьому у десяти обстежених виявлено декілька варіантів комбінованих змін: МАРС із змінами стулок мітрального клапана у вигляді потовщення або міксоматозної дегенерації, МАРС із порушеннями внут-

gastric (n = 11; 15.94%) and retrosternal (n = 6; 8.70%) localization. Children pointed to the connection between pain syndrome and food intake (n = 44; 63.77%). The disease was also accompanied by nausea (n = 38; 55.07%), belching (n = 26; 37.68%), heartburn (n = 23; 37.68%), and vomiting ((n = 12; 17.39%).

According to VEGDS data, children with chronic gastroduodenitis had predominantly non-destructive changes, which developed mainly against the background of the increased acid-forming function of the stomach (n = 49; 71.71%). HP (Helicobacter Pylori) – positivity was found in 34.78% (n=24) of children with CGD. Endoscopic changes in GERD included catarrhal changes in the esophageal mucosa (grades I–II according to G. Tytgat) in 85.71% (n = 18) of children. One adolescent with an erosive form of GERD had a polyp of the gastroesophageal junction; an endoscopically negative form was diagnosed in two teenagers. Signs of gastroesophageal reflux in combination with HP infection were detected in 42.86% (n = 9) of cases, a hyperacid state of secretion in 85.71% (n = 18) of GERD cases.

The combination of GERD and CGD in some patients (n= 23; 33.33%) was characterized by the presence of erosive changes in the duodenal mucosa against the background of congestive gastroduodenopathy and duodenogastric reflux of degree II–III. In children with destructive changes in the gastrointestinal tract of the main group 40.58% of cases were associated with HP infection.

Cardiovascular system state study in adolescents of the main group revealed the presence of both general nonspecific complaints of fatigue and weakness (n = 19; 27.54%), and specific complaints – shortness of breath with little physical activity (n=9; 23.04%), irregular or rapid heart-beat (n = 11; 15.94%), pain or tingling in the pericardial area, which was recorded in a fifth of patients. Some patients (n=10; 14.49%) had presyncopal or syncopal episodes without clear causes over the past five years. Syncopal states were assessed as short-term vegetative reactions typical of adolescence. (n=10; 14.49%) had presyncope or syncope episodes without clear causes over the past five years. Syncopal states were assessed after a comprehensive examination were regarded as short-term autonomic reactions characteristic of adolescence.

According to the data of the conducted standard ECG study, various deviations were found in 56.52% (n=39) of children: sinus arrhythmia (n=32; 46.38%), sinus tachycardia (n=2; 2.90%), bradycardia (n=12; 17.39%), incomplete right bundle branch block (IRBBB) (n=7; 10.14%), physiological delay of excitation conduction on the right bundle branch (n=5; 7.25%), wandering of atrial pacemaker (WAP) (n=5; 7.25%) which may be considered physiological for adolescence. Among the pathological signs, the article establishes presence of lower atrial rhythms (LAR) (n = 2; 2.90%) and disorders of ventricular myocardium repolarization (n = 3; 4.35%).

The results of EchoCG in 85.51% (n=59) of adolescents were within the physiological norm. Among them, minor heart anomalies (MHA) were diagnosed in 78.26% (n=54) of children in this group, which indicates a high frequency of non-differential connective tissue dysplasia manifestations. Same time, 10 of the examined patients had several variants of combined changes: MHA with changes

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

рішньо-серцевої гемодинаміки з наявністю мітральної та/або трикуспідальної регургітації 1–2 ступенів.

Незважаючи на мінімальні відхилення даних ЕКГ та ЕхоКГ, при проведенні ХМ ЕКГ лише у 27,54% (n = 19) пацієнтів результат тесту був в межах норми. Майже у половини пацієнтів діагностовано електрофізіологічні серцеві феномени, які було проаналізовано згідно з рекомендаціями AHA/ACCF/HRS щодо стандартизації та інтерпретації електрокардіограми, 2021 Resuscitation Guidelines, Resuscitation Council UK, модифікованою класифікацією аритмій за М.С. Кушаковським. Групу дітей зі змінами ХМ ЕКГ у більшості склали підлітки обох статей старше 15 років (72,46%). Середній час моніторування склав 23,65 ± 3,25 години. Максимальна ЧСС у хлопчиків основної групи склала 156,15 ± 15,89, у дівчат – 160,50 ± 12,56, у підлітків контрольної групи – 157,94 ± 14,65 уд/хв.

Зведену інформацію щодо частоти ЕКГ-феноменів серед обстежених за даними ХМ ЕКГ наведено в табл. 1.

Найбільшу групу склали різноманітні феномени, пов'язані з порушенням утворення імпульсу (71,01%) (рис. 1). Синусова тахікардія достовірно частіше виявлялася серед хворих дівчат ($p\varphi < 0,01$), ніж у хлопців основної групи, що також було підтверджено відмінністю індексу синусової тахікардії між хлопцями та дівчатами основної групи (29,18% ± 14,13 проти 39,07%± 14,75; $p < 0,05$).

in the mitral valve leaflets in the thickening form or myxomatous degeneration, MHA with intracardiac hemodynamic disorders with the presence of mitral and/or tricuspid regurgitation of 1–2 degrees.

Despite minimal ECG and EchoCG deviations, normal HM ECG recordings were obtained in 27.54% (n=19) of patients. More than half of the patients (72.46%) were diagnosed with electrophysiological cardiac phenomena, which were analyzed according to AHA/ACCF/HRS guidelines for standardization and interpretation of the electrocardiogram, the 2021 Resuscitation Guidelines, Resuscitation Council UK, modified classification of arrhythmias according to M.S. Kushakovsky [10]. The group of children with changes at the HM ECG consisted mostly of adoles-cents of both genders over 15 years of age (75.36%). The average ECG monitoring time was 23.65±3.25 hours. The maximum HR (heat rate) in boys of the main group was 156.15±15.89, in girls – 160.50 ±12.56, in adolescents of the control group – 157.94±14.65 beats/min.

Summary information on the frequency of ECG phenomena among those studied according to the HM ECG data is presented in Table 1.

In general, the largest group consisted of various phenomena associated with disturbances in impulse formation (71.01%) (Fig. 1). Sinus tachycardia was significantly more common among female patients ($p\varphi < 0.01$) than among the boys in the main group, which was also confirmed by the difference in the sinus tachycardia index between boys and girls in the main group (29.18% ± 14.13 vs. 39.07% ± 14.75).

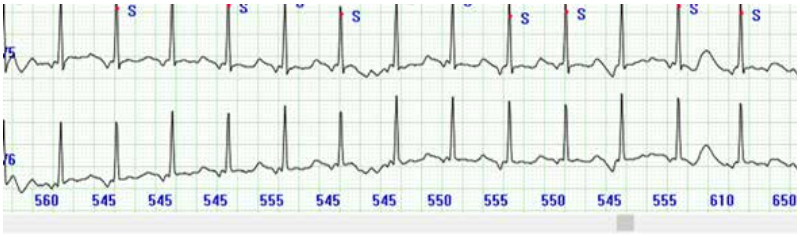


Рис. 1. Епізод нижньопередсердної тахікардії з ЧСС 110 уд / хв
Fig. 1. Episode of low atrial tachycardia with HR of 110 bt / min

У другу групу увійшли порушення серцевої провідності (18,84%), в тому числі: поодинокі епізоди синоатріальної блокади (СА блокади) II ступеня, що реєструвалися в нічний або ранковий час, СА блокади з повторюваною періодикою Венкебаха, атріовентрикулярні блокади (АВ блокади) I ступеня, АВ блокади II ступеня Мобітц 1, зокрема на фоні тахікардії (рис. 2–3).

The second group included cardiac conduction disorders (18.84%), including sinoatrial blockades (SA) of the II degree registered in the morning or during the day, SA blocks with repetitive Wenckebach periodicity, SA blockades of the II degree of type 2, atrioventricular blockades (AV block) 1st degree, AV blockades of the 2nd degree of Mobitz 1, including against the background of tachycardia (Fig. 2–3).

Рис. 2. Фрагмент ХМ ЕКГ з наявністю АВ блокади II ст. Мобіц 1 (ЧСС 100 уд / хв) (час регістрації 14:05)
Fig. 2. Fragment of HM ECG: AV block of the II-degree Mobits 1 (HR 100 bt / min) (recording time 14:05)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

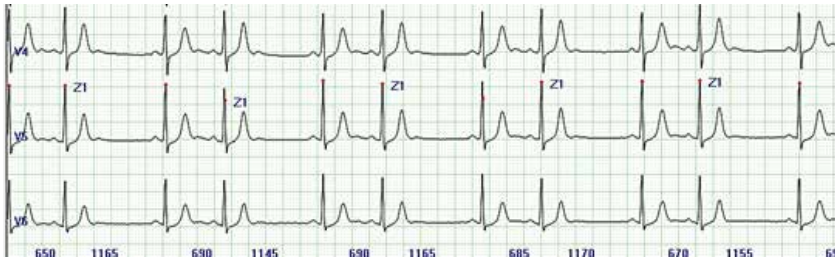


Рис. 3. Фрагмент ХМ ЕКГ з наявністю СА блокади II ст. 1 типу з проведенням 3:2 (час регістрації 10:15)
Fig. 3. Fragment of HM ECG: SA block II degree with 3:2 conduction (recording time 10:15)

Таблиця 1. Частота порушень ритму у досліджуваних групах з урахуванням статі за даними ХМ ЕКГ
Table 1. Frequency of rhythm disturbances in studied groups during the HM ECG considering gender

ЕКГ-феномени ECG phenomena	Основна група / Main group n=69			Контрольна група Control group n = 36
	хлопчики / boys n = 41	дівчата / girls n = 28	всього / total n = 69	
I. Порушення утворення імпульсу Impaired impulse formation	29 (70,73)	20 (71,43)	49 (71,01)[1]	16 (44,44)[1]
Синусова тахікардія / Sinus tachycardia	3 (7,32)[2]	9 (32,14)[2]	12 (17,39)	3 (8,33)
Синусова брадикардія / Sinus bradycardia	6 (14,63)	2 (7,14)	8 (11,59)	–
МВР / WAP	8 (19,51)	5 (17,86)	13 (18,84)	5 (13,89)
НПР / LAR	8 (19,51)	7 (25,00)	15 (21,74)	–
Прискорені ектопічні ритми / Accelerated ectopic rhythms	–	1 (3,57)	1 (1,45)	–
СВЕ > 50/24 год / SVE > 50/24 hours	1 (2,44)	1 (3,57)	2 (2,90)	–
СВЕ > 50/24 год / SVE < 50/24 hours	15 (36,59)	10 (35,71)	25 (42,03)	4 (11,11)
ШЕ / PVCs (single)	11 (26,83)	8 (28,57)	19 (27,54)	4 (11,11)
ШЕ > 30/год / PVCs > 30/hours	1 (2,44)	–	1 (1,45)	–
ШЕ пробіжки / PVCs run	–	1 (3,57)	1 (1,45)	–
II. Порушення серцевої провідності Cardiac conduction disorders	8 (19,51)	5 (17,86)	13 (18,84)[3]	2 (5,56)[3]
СА блокада II ст. (1 тип) / SA block: second-degree (type 1)	5 (12,20)	6 (21,43)	11 (15,95)	1 (2,78)
СА блокада II ст (2 тип) / SA block: second-degree (type 2)	1 (2,44)	–	1 (1,45)	–
АВ блокада 1 ст. / AV block: first-degree	2 (4,88)	1 (3,57)	3 (4,35)	1 (2,78)
АВ блокада 2 ст. Мобітц 1 / AV block: second-degree Mobitz 1	3 (7,32)	3 (10,71)	6 (8,70)	–
III. Комбіновані порушення ритму, феномени, синдроми Combined rhythm disorders, phenomena, and syndromes	3 (7,32)[2]	6 (21,43)[2]	9 (13,04)	3 (8,33)
Подовження QT (клінічно значуще) QT prolongation (clinically significant)	–	1 (3,57)	1 (1,1345)	–
Подовження QT (граничні значення) QT prolongation (boundary values)	2 (4,88)	4 (14,29)	6 (8,70)	2 (5,56)
Укорочення PQ / short PQ	1 (2,44)	1 (3,57)	2 (2,90)	1 (2,78)
IV. Порушення процесів реполяризації Repolarization disorders	27 (65,85)	15 (53,57)	42 (60,87)[3]	15 (41,67)[3]
РРШ / ERP	15 (36,59)	6 (21,43)	21 (30,43)[1]	3 (8,33)[1]
Елевація сегмента ST / ST segment elevation	6 (14,63)	–	6 (8,70)	4 (11,11)
Депресія сегмента ST / ST segment depression	–	2 (7,14)	2 (2,90)	–
Зміни зубця Т / T wave changes	17 (41,46)	9 (32,14)	26 (37,68)	7 (19,44)
Паузи ритму (RR ≥1750 мс) / Rhythm pauses (RR ≥ 1750 ms)	7 (17,07)	4 (14,29)	11 (15,94)3	2 (5,56)[3]

Примітки: кількість (%);
МВР – міграція водія ритму;
НПР – нижньопередсердний ритм;
СВЕ – суправентрикулярна екстрасистолія;
СВТ – суправентрикулярна тахікардія;
ШЕ – шлуночкова екстрасистолія;
АВ блокада – атріовентрикулярна блокада;
РРШ – рання реполяризація шлуночків;
[1]pφ < 0,01 – відмінності між частотою виявлених феноменів в групі контролю та основної;
[2]pφ < 0,01 – відмінності частоти виявлених змін у дівчат та хлопців основної групи;
[3]pφ < 0,05 – відмінності між частотою виявлених феноменів в групі контролю та основної;
[4]pφ < 0,05 – відмінності частоти виявлених змін у дівчат та хлопців основної групи.

Notes: Values are number (%);
WAP – wandering of atrial pacemaker;
LAR – Lower Atrial Rhythm;
SVE – supraventricular extrasystole;
PVCs – Premature ventricular complexes;
AV block – atrioventricular block;
SA block – sinoatrial block;
ERP – early repolarization pattern;
[1]pφ < 0,01 – differences between the frequency of identified phenomena in the control and main groups;
[2]pφ < 0,01 – differences in the frequency of identified changes in girls and boys of the main group;
[3]pφ < 0,05 – differences between the frequency of identified phenomena in the control and main groups;
[4]pφ < 0,05 – differences in the frequency of identified changes in girls and boys of the main group.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Третя група аритмій «комбіновані порушення ритму, феномени та синдроми» склала (13,04%) та була представлена епізодами подовження інтервалу QTc, укорочення QTc інтервалу, укорочення PQ інтервалу. Комбіновані порушення ритму достовірно частіше виявлялася серед хворих дівчат ($p\varphi < 0,05$). Шість підлітків мали граничні значення інтервалу QTc (вимір справжньої тривалості інтервалу проводився у трьох послідовних комплексах у стабільному періоді серцевого ритму одночасно всіх відведень), у однієї дитини максимальне значення QT/QTc склало 485 мсек / 567 мсек на ЧСС 80 уд/хв та візуально відповідало патерну LQT3, що потребувало подальшого дообстеження щодо наявності вродженої каналопатії, дані сімейного анамнезу були відсутні (рис. 4). Значення дисперсії інтервалу QT у даному випадку знаходилося в межах допустимих значень (QTd – 20 мсек). Імовірність наявності LQT за розрахунком QT-calculator для пацієнта склала 99,6% [11].

The third group of arrhythmias «combined rhythm disturbances, phenomena and syndromes» amounted to 13.04% and was represented by episodes of prolongation of the QTc interval, shortening of the PQ interval. Combined rhythm disturbances were significantly more frequent among female patients ($p\varphi < 0.05$). Six adolescents had borderline values of the QTc interval (measurement of the true duration of the interval was carried out in 3 consecutive complexes in a stable period of the heart rate simultaneously in all leads). In one patient, the maximum QT/QTc value was 485 ms / 567 ms at a heart rate of 80 beats/min and visually corresponded to the LQT3 pattern, requiring further examination regarding the presence of congenital channelopathy. Family history data were missing (Fig. 4). The value of the QT interval dispersion in this case was within acceptable values (QTd – 20 ms). The probability of having LQT according to the QT-calculator for the patient was 99.60% [11].

Рис. 4. Фрагмент ХМ ЕКГ з наявністю подовження QT/QT с = 485/567 мс (ЧСС 80 уд/хв)
Fig. 4. Fragment of HM ECG: prolongation of QT/QTc = 485/567 ms (HR 80 beats/min)

У випадку виявлення укороченого PQ інтервалу не було зафіксовано епізодів пароксизмальної тахікардії, що не відповідало діагностичним критеріям CLC синдрому (рис. 5).

The patient with a shortened PQ interval had no episodes of paroxysmal tachycardia, which did not meet the diagnostic criteria for CLC syndrome (Fig. 5).

Рис. 5. Фрагмент ХМ ЕКГ з наявністю феномену укороченого PQ (0,08–0,1 с) із нормальною шириною комплексу QRS
Fig. 5. Fragment of the HM ECG: phenomenon of shortened PQ (0.08–0.1 s) with a normal width of the QRS complex

Окрему групу склали реполяризаційні зміни міокарда шлуночків. Зміни інтервалу ST-T та зубця Т були у 60,87% (n = 42) підлітків, серед яких домінували патерн ранньої реполяризації шлуночків (РРШ) та інверсія Т-зубця, в поодиноких випадках зустрічались елевація та депресія сегмента ST та сплощення зубця Т (рис. 6).

Аналіз змін ССС з урахуванням типу патологічного процесу ШКТ показав, що в групі дітей з ГЕРХ зміни ХМ ЕКГ з боку порушень утворення імпульсу реєструвалися достовірно частіше, ніж у дітей з ХГД (відповідно: 85,71% проти 65,91; $p\varphi < 0,05$), що співпадає з відомими фактами, описаними у дорослих пацієнтів (табл. 2) [2].

A separate group consisted of repolarization changes in the ventricular myocardium. Changes in the ST-T interval and T wave were present in 60.87% (n = 42) of adolescents, among whom the early repolarization pattern (ERP) and T-wave inversion were dominant (Fig. 6). In rare cases, elevation and depression of the ST segment and flattening of the T wave have occurred.

Given the type of pathological process of the GIT, the HM ECG results analysis showed that in the group of children with GERD, impaired impulse formation was recorded significantly more often than in children with chronic gastritis (respectively: 85.71% vs. 65.91; $p\varphi < 0.05$), which coincides with the known facts described in adult patients (Table 2) [2].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

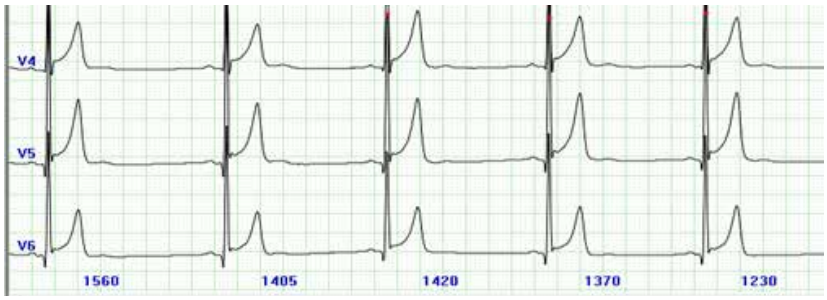


Рис. 6. Фрагмент ХМ ЕКГ з наявністю патерна РРШ на фоні брадикардії
Fig. 6. Fragment of HM ECG: ERP against the background of bradycardia

Таблиця 2. Частота відхилень ЕКГ у досліджуваних групах за даними ХМ ЕКГ з урахуванням клінічного варіанта захворювання ШКТ
Table 2. Frequency of ECG abnormalities in studied groups related to the results of HM ECG considering the clinical variant of gastrointestinal disease

ЕКГ феномени ECG phenomena	Клінічний варіант ураження ШКТ Clinical variant of gastrointestinal disease		
	ХГД / CGD (n = 44)	ГЕРХ / GERD (n = 21)	ВХШ або ВХДПК Gastric ulcer or duodenal ulcer (n = 4)
I. Порушення утворення імпульсу Impaired impulse formation	29[1] (65,91)	18[1] (85,71)	2 (50,00)
II. Порушення серцевої провідності Cardiac conduction disorders	7 (15,91)	4 (19,05)	2 (50,00)
III. Комбіновані порушення ритму, феномени та синдроми Combined rhythm disorders	7 (15,91)	2 (9,52)	–
IV. Порушення процесів реполяризації Repolarization disorders	29 (65,91)	11 (52,38)	2 (50,00)

Примітки:
кількість (%);
ХГД – хронічний гастродуоденіт;
ГЕРХ – гастроезофагеальна хвороба;
ВХШ – виразкова хвороба шлунка;
ВХДПК – виразкова хвороба дванадцятипалої кишки;
[1]p<0,05 – відмінності між показниками хворих з ХГД та ГЕРХ.

Notes:
Values are number (%);
CGD – chronic gastroduodenitis;
GERD – gastroesophageal disease;
[1]p < 0.05 – differences between the indicators of patients with CGD and GERD.

У групі порівняння у 36 підлітків при проведенні ХМ ЕКГ зміни виявлялися у 52,78% (n = 19) обстежених, що було достовірно рідше, ніж в основній групі ($p\varphi < 0,05$). Серед виявлених змін мали місце синусова тахікардія (8,33%) та міграція водія ритму (13,89%), що було дещо рідше, ніж в основній групі, але не досягало рівня достовірності (табл. 1). Ектопічні комплекси та ритми реєструвалися у вигляді: шлуночкової мономорфної монотопної екстрасистолії (11,11%), у двох випадках кількість ШЕ була більше 100 на добу (максимальна кількість 737 комплексів / 24 години); суправентрикулярної екстрасистолії (11,11%), поодинокі та кількістю менш 10 екстрасистол за 24 години, у однієї особи виявилися парні СВЕ. Порушення серцевої провідності у дітей групи порівняння реєструвалися достовірно рідше ($p\varphi < 0,05$), як і порушення реполяризації міокарда шлуночків при порівнянні з хворими однолітками ($p\varphi < 0,01$).

У подальшому результати моніторування були розділені на дві групи: доброякісні аритмії та потенційно недоброякісні аритмії, до яких було включено: прискорені ектопічні ритми, пробіжки шлуночкової тахікардії,

In 36 adolescents in the comparison group, HM ECG abnormalities were detected in 52.78% (n = 19) of those examined, which was significantly less common than in the main group ($p\varphi < 0.05$). Among the identified changes, there were sinus tachycardia (n = 3; 8.33%) and WAP (n = 5; 13.89%), which was slightly less frequent than in the main group but did not reach the level of significance (Table 1). Ectopic complexes and rhythms were recorded in the form of ventricular monomorphic monotopic extrasystole (n = 4; 11.11%), as well as supraventricular extrasystole (n = 4; 11.11%). The number of single SVEs in children was less than 10 extrasystoles in 24 hours; paired SVEs were identified in one teenager. Cardiac conduction disturbances were recorded in children of the comparison group significantly less frequently ($p\varphi < 0.05$), as were ventricular myocardial repolarization disorders compared with sick peers ($p\varphi < 0.01$).

The monitoring results were then divided into two groups: benign and potentially non-benign arrhythmias, which included: accelerated ectopic rhythms, ventricular tachycardia runs, SA block: second-degree

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

СА блокада 2 ст. 2 тип, АВ блокада 2 ст., Long QT (табл. 3).

(type 2), AV block: second-degree Mobitz 1, Long QT (Table 3).

Таблиця 3. Частота порушень ритму доброякісного та недоброякісного характеру в досліджуваних групах з урахуванням патології ШКТ за даними ХМ ЕКГ
Table 3. Frequency of benign and non-benign arrhythmias in studied groups related to the results to HM ECG considering the clinical variant of gastrointestinal disease

Тип аритмії / Type of arrhythmia	Клінічний варіант ураження ШКТ Clinical variant of gastrointestinal disease			Разом / Total
	ХГД / CGD	ГЕРХ / GERD	ВХШ або ВХДПК Gastric ulcer or duodenal ulcer	
Доброякісний варіант аритмій Benign arrhythmias	38 (86,36)	18 (85,71)	3 (5,00)	59 (85,51)
Недоброякісний варіант аритмій Non-benign arrhythmias	6 (13,64)	3 (14,29)	1 (25,00)	10 (14,49)

Примітки:
кількість (%);
ХГД – хронічний гастродуоденіт;
ГЕРХ – гастроезофагеальна хвороба;
ВХШ – виразкова хвороба шлунка;
ВХДПК – виразкова хвороба дванадцятипалої кишки.

Notes:
Values are number (%);
CGD – chronic gastroduodenitis;
GERD – gastroesophageal disease.

Аритмії були доброякісними у 85,51% випадків та недоброякісними у 14,49% випадків серед підлітків основної групи. Частота їх виявлення у дітей з різними патологічними станами ШКТ достовірно не відрізнялася. У групі контролю не було виявлено недоброякісних варіантів аритмій.

Оскільки у дітей основної групи діагностована супутня патологія, було проаналізовано вплив СВД пубертатного періоду, СДВЧГ та СНДСТ на формування електрофізіологічних змін серця. Досліджувану групу було розподілено на підгрупи: А – пацієнти з наявністю супутньої патології та змінами ХМ ЕКГ; В – пацієнти з наявністю супутньої патології та з нормальним результатом добової ЕКГ, С – пацієнти без супутньої патології та змінами ХМ ЕКГ, D – пацієнти без коморбідного стану супутньої патології та з нормальним результатом ХМ ЕКГ. Параметри в групах проаналізовано за методом відношення шансів (табл. 4–5).

Arrhythmias were benign in 85.51% of cases and malignant in 14.49% among adolescents in the main group. The frequency of their detection did not differ significantly in children with different pathological conditions of the gastrointestinal tract. Non-benign arrhythmias were not found in the control group.

Since the children of the main group were diagnosed with concomitant pathology, the influence of pubertal ADS, BIHS and UCND on the formation of electrophysiological changes in the heart was analyzed. The study group was divided into subgroups: A – patients with concomitant pathology and changes in HM ECG; B – patients with concomitant pathology and normal 24-hour ECG results, C – patients without concomitant pathology and with changes in HM ECG, D – patients without comorbid conditions of concomitant pathology and normal HM ECG results. The parameters in the groups were analyzed using the odds ratio method (Tables 4–5).

Таблиця 4. Аналіз факторів ризику формування порушень ритму у пацієнтів з урахуванням супутньої патології
Table 4. Analysis of risk factors for the development of rhythm disturbances in patients considering concomitant pathology

Фактор / Factor	ВШ / OR	95% ДІ / 95% CI	p
СВД / ADS	1,611	0,580–4,477	0,3603
СДВЧГ / BIHS	1,712	0,420–6,968	0,4530
НДСТ / UCTD	0,402	0,125–1,290	0,1255
Поєднання трьох станів / Combination of three states	1,765	0,633–4,923	0,278

Примітки:
ВШ – відношення шансів;
95% ДІ – довірчий інтервал;
СВД – синдром вегетативної дисфункції;
СДВЧГ – синдром доброякісної внутрішньочерепної гіпертензії;
НСТД– недиференційована дисплазія сполучної тканини.

Notes:
OR – odds ratio;
95% CI – confidence interval;
ADS – autonomic dysfunction syndrome;
BIHS – benign intracranial hypertension;
UCTD – undifferentiated connective tissue dysplasia.

Аналіз відношення шансів виникнення аритмій у групі пацієнтів з захворюваннями ШКТ з урахуванням наявності НДСТ, СДВЧГ та СВД показав, що перераховані супутні стани достовірно не впливають на зміни ХМ ЕГК ($p > 0,05$), як окремо кожний, так й їх поєднання у одного пацієнта. Також не знайдено достовірного впливу супутньої патології на виникнення саме недоброякісних варіантів (табл. 5).

An analysis of the odds ratio of arrhythmia occurrence in a group of patients with gastrointestinal diseases taking into account the presence of UCTD, ADHF and SVD showed that the listed concomitant conditions do not significantly affect changes in the HM ECG ($p > 0.05$), either separately or in combination in one patient. Also, no reliable effect of concomitant pathology on the occurrence of malignant variants was found (Table 5).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 5. Аналіз факторів ризику розвитку доброякісних аритмій у пацієнтів з урахуванням супутньої патології
Table 5. Analysis of risk factors for the development of non-benign arrhythmias in patients considering concomitant pathology

Фактор / Factor	ВШ / OR	95% ДІ / 95% CI	p
ADS	0,686	0,179–2,629	0.582
BIHS	0,864	0,195–3,802	0.846
UCTD	3,704	0,868–15,799	0.740
Combination of three states	1,000	0,094–10,665	1.000

Примітки:
ВШ – відношення шансів;
95% ДІ – довірчий інтервал;
СВД – синдром вегетативної дисфункції;
СДВЧГ – синдром доброякісної внутрішньочерепної гіпертензії;
НСТД– недиференційована дисплазія сполучної тканини.

Notes:
OR – odds ratio;
95% CI – confidence interval;
ADS – autonomic dysfunction syndrome;
BIHS – benign intracranial hypertension;
UCTD – undifferentiated connective tissue dysplasia.

Обговорення

Інтерпретація змін ХМ ЕГК на тлі хронічних запальних захворювань шлунково-кишкового тракту у дітей підліткового віку утруднена, оскільки пубертатний період характеризується власними особливостями електрофізіології серця (тахіаритмія, міграція водія ритму, поодинокі екстрасистоли, фізіологічні реполяризаційні зміни та ін.). Вважається, що достовірність виявлення ЕКГ відхилень на холтерівських записах, за думкою дослідників, зростає у дітей старше 10 років [12, 13, 22].

При вивченні відхилень ССС при патології ШКТ більшість дослідників акцентували увагу на дисбалансі вегетативної нервової системи, який присутній майже у половини пацієнтів з патологією ШКТ [19, 20].

Інші автори вважають, що в патогенезі серцевих проявів захворювань ШКТ основну роль відіграє шлунково-езофагеальний рефлюкс, що призводить до підвищеної збудливості вісцеральних сенсорних нейронів або рефлекторної стенокардії [21]. Разом з цим підвищена активація блукаючого нерва, подібна до тієї, що спостерігається у пацієнтів з ГЕРХ, створює окремий аритмогенний субстрат для повторного входження імпульсу, тим самим підвищуючи чутливість міокарда до ФП [2, 23]. У пацієнтів з ФП у 66% випадків було виявлено локальний передсердний міокардит або перикардит [2, 18, 24].

Проведене дослідження продемонструвало, що у дітей з ХГД та ГЕРХ у стадії загострення зміни ЕКГ реєструвалися достовірно частіше (72,46%), зокрема порушення автоматизму, провідності та реполяризаційних процесів, ніж у дітей групи контролю ($p < 0,05$). Виявлені зміни збігаються з результатами Т.М. Міхєєвої та співавт. (2016), які встановили наявність аритмій у 40,00% хворих та різних серцевих блокад – у 15,60% [9]. Встановлено, що у дівчат основної групи частота виявлення синусової тахікардії вища, ніж у хлопців, що може бути пояснено більш раннім та активним статевим дозріванням, нейрогуморальними змінами в організмі та більшою вразливістю до тривожності в цьому віці [25, 26].

За даними різних авторів такі порушення серцевої провідності, як АВ блокади 1 ступеня, можуть реєструватися у 10–22% здорових дітей та зумовлені домінуванням парасимпатичного впливу в даному віці [12, 13]. Однак, серед досліджених підлітків з патологією ШКТ виявлено значно більшу частоту реєстрації АВ блокад та наявність тахізалежних АВ блокад

Discussion

The interpretation of changes in HM EGC against the background of chronic inflammatory diseases of the gastrointestinal tract in adolescent children is difficult, since the pubertal period is characterized by its own peculiarities of heart electrophysiology (tachyarrhythmia, migration of the pacemaker, single extrasystoles, physiological repolarization changes, etc At the same time, the reliability of detecting ECG abnormalities at Holter recordings, according to researchers, increases in children over 10 years of age [12, 13, 22].

When studying CVS abnormalities in gastrointestinal tract pathology, most researchers focused on the imbalance of the autonomic nervous system in almost half of patients with gastrointestinal tract pathology [19, 20].

Other authors believe that in the pathogenesis of cardiac manifestations of diseases of the gastrointestinal tract, gastroesophageal reflux is of primary importance and leads to increased excitability of visceral sensory neurons or reflex angina [21]. At the same time, the increased activation of the vagus nerve, similar to that observed in patients with GERD, creates a separate arrhythmogenic substrate for impulse reentry, thereby increasing the sensitivity of the myocardium to AF [2, 23]. Local atrial myocarditis or pericarditis was detected in 66% of patients with AF [2, 18, 24].

Thus, our study demonstrated that HM ECG abnormalities were recorded significantly more often (72.46%), in children with gastroesophageal disease in the acute stage, in particular, disorders of automaticity, conduction and repolarization processes, than in children in the control group ($p < 0.05$). The identified changes coincide with the results of T.M. Mikheeva et al. (2016), who established the presence of arrhythmias in 40.00% of patients and various heart blocks in 15.60% [9]. The frequency of sinus tachycardia detection was higher in girls of the main group than in boys, which can be explained by earlier and more active puberty, neurohumoral changes in the body and greater vulnerability to anxiety at this age [25, 26].

According to various authors, cardiac conduction disorders such as 1st degree AV block can be recorded in 10–22% of healthy children and are due to the dominance of parasympathetic effects at a given age [12, 13]. In our study among adolescents with gastrointestinal pathology a significantly higher frequency of AV blockades registration was revealed, as well as the presence of frequency dependent AV blockades of

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

1 та 2 ступенів, які не можна було пояснити виключно впливом вагальної стимуляції. Слід зазначити також наявність не тільки фізіологічних варіантів СА блокад, а й несприятливих варіантів з безсимптомним перебігом, що потребує додаткового обстеження.

Суправентрикулярна екстрасистолія, яка не перевищує 20 екстрасистол за годину часу, реєструється з великою розбіжністю у відсотках серед дітей шкільного віку без патології серця, що також пов'язують з вегетатативною дисфункцією [15–17]. Niwa K. та співавт. повідомляють, що частота передчасних скорочень шлуночків збільшується з 0,16 до 0,45% разом із збільшенням віку, від молодшого шкільного віку до дітей старших класів відповідно [14]. Нами не було доведено, що у дітей із захворюваннями гастродуоденальної зони передчасні комплекси реєструється частіше, ніж у здорових однолітків, але в окремих випадках частота суправентрикулярних та шлуночкових екстрасистол була вища 30 за годину.

Як відомо, синдром подовженого інтервалу QT асоційований з потенційно фатальними шлуночковими тахіаритміями, його поширеність у популяції дітей, зокрема підлітків, невідома. Ми виявили наявність граничних варіантів QT інтервалу, за якими потрібно продовжувати спостереження, у 8,70% підлітків, а також одного пацієнта з високою вірогідністю генетичного варіанта синдрому LQT. Тривалість електричної систоли серця у дітей з патологією ШКТ має суттєве значення у випадках, коли в подальшому планується використання в терапії прокінетичних препаратів.

За результатами дослідження більшість порушень зустрічалася саме при ГЕРХ, що співпадає з даними досліджень серед дорослих [2, 4]. Випадків загрозливих життю аритмій у групах досліджених зафіксовано не було. Більшість аритмій було розцінено як доброякісні (85,51%), що загалом співпадає з даними досліджень у дітей підліткового віку [15, 22]. Разом з тим, виявлені нами електрофізіологічні зміни та феномени (прискорені ектопічні ритми, тахізалежні блокади, ознаки дисфункції синусового вузла, подовження інтервалу QT, укорочення PQ, зміни інтервалу ST-T) вимагають додаткового обстеження і не виключають потенційний ризик щодо розвитку недоброякісних аритмій при пролонгації та прогресуванні запального процесу гастроінтестинальної зони.

Супутня патологія у вигляді НДСТ, СДВЧГ і СВД однаковою мірою впливала на частоту змін біоелектричної діяльності серця. Аналіз ризику поєднання даних станів і виявлених електрофізіологічних феноменів за співвідношенням шансів показав, що жоден супутній стан не має достовірно більшого впливу на частоту ЕКГ проявів.

Таким чином, діти з хронічною патологією гастродуоденальної зони можуть мати відхилення на ХМ ЕКГ, які більшою мірою відносяться до особливостей підліткового періоду. В той же час, відокремлена група пацієнтів, яка має скарги кардіального характеру і несприятливі електрофізіологічні зміни і феномени, і складає групу ризику подальшого нашарування порушень з боку серцево-судинної системи в дорослому віці.

1 and 2 degrees, which could not be explained solely by the influence of vagal stimulation and requires additional examination. It should also be noted that in the main group there were not only physiological variants of SA blockades, but also unfavorable variants with an asymptomatic course, which also requires additional examination to recognize sinus node dysfunction.

Supraventricular extrasystole, which does not exceed 20 extrasystoles per hour, is recorded with a large discrepancy in percentages among school-age children without heart pathology, which is also associated with autonomic dysfunction [15–17]. Niwa K. et al. It was reported that the incidence of premature ventricular contractions increases from 0.16% to 0.45% with increasing age from primary school age to high school children, respectively [14]. We have not proven that in children with diseases of the gastroduodenal zone, premature complexes are recorded more often than in healthy peers, but in some cases the frequency of supraventricular extrasystoles was higher than 30 per hour.

Long QT syndrome is known to be associated with potentially fatal ventricular tachyarrhythmias, and its prevalence in the pediatric population is unknown. We found that 8.70% of adolescents had marginal variants of the QT interval, as well as one patient with a high probability of having a genetic variant of LQT syndrome that required careful further examination. The duration of electrical systole of the heart in children with gastrointestinal pathology is significant in cases where treatment with prokinetic drugs is planned in the future.

Due to our results, the majority of arrhythmogenic and repolarization disorders occurred precisely in patients with GERD, which corresponds to the data of studies among adults [2, 4]. There were no cases of life-threatening arrhythmias recorded in the groups of those examined. Most arrhythmias were assessed as benign (85.51%), which coincides with the data from studies among adolescents [15, 22]. At the same time, the electrophysiological changes and phenomena that were identified (accelerated ectopic rhythms, tachycardia-dependent blocks, signs of sinus node dysfunction, prolongation of the QT interval, shortening of the PQ, changes in the ST-T interval) require additional examination and confirm the potential risk of developing benign arrhythmias during prolongation and progression of the inflammatory process in the gastrointestinal zone.

Concomitant pathology in the form of BIHS, ADS and UCTD equally affected the frequency of changes in the bioelectrical activity of the heart. Analysis of the risk of the combination of these conditions and detected electrophysiological phenomena according to the odds ratio showed that no concomitant condition has a significantly greater influence on the frequency of ECG manifestations.

Thus, children with chronic pathology of the gastroduodenal zone may have abnormalities on the HM ECG, which are more characteristic of the adolescent period. At the same time, there is a separate group of patients who have complaints of a cardiac nature and adverse electrophysiological changes and phenomena, and constitute a group at risk of further layering of disorders on the part of the cardiovascular system in adulthood.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ВИСНОВКИ

У підлітків з хронічними запальними захворюваннями шлунково-кишкового тракту реєструються різноманітні біоелектричні ЕКГ явища частіше, ніж у здорових однолітків. Серед виявлених змін переважали порушення утворення імпульсу і зміни реполяризації міокарда шлуночків. Синусова тахікардія та комбіновані порушення ритму достовірно частіше виявлялись серед хворих дівчат. Порушення автоматизму було більш характерно для пацієнтів з ГЕРХ.

Несприятливі варіанти аритмій зареєстровані у 14,49% підлітків.

Встановлено, що такі супутні стани, як синдром доброякісної ліквoрної гіпертензії, синдроми вегетативної дисфункції та недиференційованої дисплазії сполучної тканини, не мають достовірно більшого впливу щодо шансів виникнення порушень функціонального стану серця у дітей із патологією ШКТ.

CONCLUSIONS

In adolescents with chronic diseases of the gastrointestinal tract, various bioelectrical ECG phenomena are more often registered. Among them, there is a violation of automatism, conduction and repolarization of the myocardium of the ventricles. Sinus tachycardia and combined rhythm disturbances were significantly more common in girls. Violation of the automated heart was more typical for patients with GERD.

Unfavorable variants of arrhythmias were registered in 14.49% of teenagers.

It was established that such concomitant conditions as benign CSF hypertension, autonomic dysfunction syndrome and undifferentiated connective tissue dysplasia do not have a significantly greater influence on the development of functional heart disorders in children with gastrointestinal tract pathology.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Jervell O., Lødøen O. The gastrocardiac syndrome. Acta medica Scandinavica. *Supplementum*. 1952. Vol. 266. P. 595–599. DOI: https://doi.org/10.1111/j.0954-6820.1952.tb13409.x
2. Linz D., Hohl M., Vollmar J., Ukena C., Mahfoud F., Böhm M. Atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: the cardiogastric interaction. *EP Europace.* 2017. Vol. 19(1). P. 16–20. DOI: https://doi.org/10.1093/europace/euw092
3. Reddy Y.M., Singh D., Nagarajan D., Pillarisetti J., Biria M., Boolani H. Atrial fibrillation ablation in patients with gastroesophageal reflux disease or irritable bowel syndrome-the heart to gut connection! *Journal of interventional cardiac electrophysiology.* 2013. Vol. 37(3). P. 259–265. DOI: https://doi.org/10.1007/s10840-013-9807-5
4. Huang C.C., Chan W.L., Luo J.C. Gastroesophageal reflux disease and atrial fibrillation: a nationwide population-based study. *PLoS One.* 2012. Vol. 7(10). e47575 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047575
5. Xu L., Zhang Y., Xie J., Liu Y., Xu L. Association between gastroesophageal reflux disease and atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. *Revista española de enfermedades digestivas.* 2019. Vol. 111(11). P. 874–879. DOI: https://doi.org/10.17235/reed.2019.5389/2017
6. Kunz J.S., Hemann B., Edwin Atwood J., Jackson J., Wu T., Hamm C. Is there a link between gastroesophageal reflux disease and atrial fibrillation? *Clinical cardiology.* 2009. Vol. 32(10). P. 584–587. DOI: https://doi.org/10.1002/clc.20660
7. Maruyama T., Fukata M., Akashi K. Association of atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: Natural and therapeutic linkage of the two common diseases. *Journal of arrhythmia.* 2018. Vol. 35(1). P. 43–51. DOI: https://doi.org/10.1002/joa3.12125
8. Волошин К., Ковалівська С., Крутенко Н., Цюра О., Шлеєнкова А. Аналіз структури патології органів шлунково-кишкового тракту у дітей. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* 2021. № 8. DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2021-8-02
9. Пашковський С.М., Сергета І.В., Кальниш В.В., Коваль Н.В., Богуш Г.Л., Тимчишин Т.П., Іськів Л.Л. Вплив асоційованих зі стресом захворювань органів травлення на психофізіологічний стан операторів безпілотних літальних апаратів. *Клінічна та профілактична медицина.* 2024. № 3. С. 27–35. DOI: https://doi.org/10.31612/2616-4868.3.2024.04
10. Міхєєва Т.М., Нечитайло Ю.М. Особливості серцево-судинної системи у школярів із хронічною гастродуоденальною патологією. *Буковинський медичний вісник.* 2016. Т. 20, № 2. С. 96–100. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2016_20_2_26
11. Sivitskaya L., Vaikhanskaya T., Danilenko N. Long QT Syndrome: Clinical and Genetic Diagnostic Complications. 2020. Vol. 12. P. 747–766. DOI: https://doi.org/10.34883/PI.2020.12.5.012
12. Dickinson D.F., Scott O. Ambulatory electrocardiographic monitoring in 100 healthy teenage boys. *British Heart Journal.* 1984. Vol. 51. P. 179–183.
13. Garson A.Jr. Arrhythmias in pediatric patients. *The Medical clinics of North America.* 1984. Vol. 68(5). P. 1171–1210. DOI: https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)31091-4
14. Niwa K., Warita N., Sunami Y., Shimura A., Tateno S., Sugita K. Prevalence of arrhythmias and conduction disturbances in large population-based samples of children. *Cardiology in the Young.* 2004. Vol. 14(1). P. 68–74. DOI: https://doi.org/10.1017/S104795110400112X

REFERENCES

1. Jervell O, Lødøen O. The gastrocardiac syndrome. Acta medica Scandinavica. *Supplementum*. 1952;266:595–9. DOI: https://doi.org/10.1111/j.0954-6820.1952.tb13409.x
2. Linz D, Hohl M, Vollmar J, Ukena C, Mahfoud F, Böhm M. Atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: the cardiogastric interaction. *EP Europace.* 2017;19(1):16–20. DOI: https://doi.org/10.1093/europace/euw092
3. Reddy YM, Singh D, Nagarajan D, Pillarisetti J, Biria M, Boolani H. Atrial fibrillation ablation in patients with gastroesophageal reflux disease or irritable bowel syndrome-the heart to gut connection! *Journal of interventional cardiac electrophysiology.* 2013;37(3):259–65. DOI: https://doi.org/10.1007/s10840-013-9807-5
4. Huang CC, Chan WL, Luo JC. Gastroesophageal reflux disease and atrial fibrillation: a nationwide population-based study. *PLoS One.* 2012;7(10):e47575. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047575
5. Xu L, Zhang Y, Xie J, Liu Y, Xu L. Association between gastroesophageal reflux disease and atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. *Revista española de enfermedades digestivas.* 2019;111(11):874–9. DOI: https://doi.org/10.17235/reed.2019.5389/2017
6. Kunz JS, Hemann B, Edwin Atwood J, Jackson J, Wu T, Hamm C. Is there a link between gastroesophageal reflux disease and atrial fibrillation? *Clinical cardiology.* 2009;32(10):584–7. DOI: https://doi.org/10.1002/clc.20660
7. Maruyama T, Fukata M, Akashi K. Association of atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: Natural and therapeutic linkage of the two common diseases. *Journal of arrhythmia.* 2018;35(1):43–51. DOI: https://doi.org/10.1002/joa3.12125
8. Voloshyn K, Kovalivska S, Krutenko N, Tsyura O, Shleyenkova A. Analysis of the structure of the pathology of the gastrointestinal tract in children. *Actual problems of modern medicine.* 2021;8. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2617-409X-2021-8-02
9. Pashkovsky SM, Sergeta IV, Kalnysh VV, Koval NV, Bogush GL, Tymchyshyn TP., Iskiv LL. The impact of stress-associated diseases of the digestive organs on the psychophysiological state of unmanned aerial vehicle operators. *Clinical and preventive medicine.* 2024;3:27–35. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.31612/2616-4868.3.2024.04
10. Mikheeva TM, Nechytaylo YM. Features of the cardiovascular system in schoolchildren with chronic gastroduodenal pathology. *Bukovyna Medical Herald.* 2016;20(2):96–100. (In Ukrainian). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2016_20_2_26
11. Sivitskaya L, Vaikhanskaya T, Danilenko N. Long QT Syndrome: Clinical and Genetic Diagnostic Complications. 2020;12:747–66. DOI: https://doi.org/10.34883/PI.2020.12.5.012
12. Dickinson DF, Scott O. Ambulatory electrocardiographic monitoring in 100 healthy teenage boys. *British Heart Journal.* 1984;51:179–83.
13. Garson AJr. Arrhythmias in pediatric patients. *The Medical clinics of North America.* 1984;68(5):1171–210. DOI: https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)31091-4
14. Niwa K, Warita N, Sunami Y, Shimura A, Tateno S, Sugita K. Prevalence of arrhythmias and conduction disturbances in large population-based samples of children. *Cardiology in the Young.* 2004;14(1):68–74. DOI: https://doi.org/10.1017/S104795110400112X

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

15. Southall D.P., Johnston F., Shinebourne E.A., Johnston P.G. 24-hour electrocardiographic study of heart rate and rhythm patterns in population of healthy children. *British heart journal.* 1981. Vol. 45(3). P. 281–291. DOI: https://doi.org/10.1136/hrt.45.3.281
16. Nagashima M., Matsushima M., Ogawa A. Cardiac arrhythmias in healthy children revealed by 24-hour ambulatory ECG monitoring. *Pediatric cardiology.* 1987. Vol. 8(2). P. 103–108. DOI: https://doi.org/10.1007/BF02079464
17. Целуйко В.І., Радченко О.В. Холтерівське моніторування у діагностиці порушень ритму та провідності серця. *Medicine of Ukraine.* 2016. № 5–6. P. 201–202. DOI: https://doi.org/10.37987/1997-9894.2016.5-6(201-2).204729
18. Lazzerini P.E., Laghi-Pasini F., Boutjdir M. Cardioimmunology of arrhythmias: the role of autoimmune and inflammatory cardiac channelopathies. *Nature reviews. Immunology*. 2019. Vol. 19. P. 63–64. DOI: https://doi.org/10.1038/s41577-018-0098-z
19. Altomare A., Guarino M., Cocca S., Emerenziani S., Cicala M. Gastroesophageal reflux disease: Update on inflammation and symptom perception. *World journal of gastroenterology.* 2013. Vol. 19. P. 6523–6528. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i39.6523
20. Milovanovic B., Filipovic B., Mutavdzin S., Zdravkovic M., Gligorijevic T., Paunovic J., Arsic M. Cardiac autonomic dysfunction in patients with gastroesophageal reflux disease. *World journal of gastroenterology*. 2015. Vol. 21(22). P. 982–989. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i22.6982
21. Bhat Y.M., Bielefeldt K. Capsaicin receptor (TRPV1) and non-erosive reflux disease. *European journal of gastroenterology & hepatology.* 2006. Vol. 18(3). P. 263–270. DOI: https://doi.org/10.1097/00042737-200603000-00006
22. Ouaghlani K., Drissa M., Ben Othmen R., Msaad H., Hakim K., Ouarda F. The yield of 24-hour ambulatory electrocardiography in the assessment of symptomatic school-age children. *La Tunisie médicale*. 2023. Vol. 101(8–9). P. 698–703.
23. Linz D., Ukena C., Mahfoud F., Neuberger H.R., Böhm M. Atrial autonomic innervation: a target for interventional antiarrhythmic therapy? *Journal of the American College of Cardiology*. 2014. Vol. 63. P. 215–224.
24. Kouvas N., Kontogiannis C., Georgiopoulos G., Spartalis M., Tsilimigras D.I., Spartalis E. The complex crosstalk between inflammatory cytokines and ventricular arrhythmias. *Cytokine*. 2018. Vol. 111. P. 171–177. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.08.007
25. Fiol-Veny A., De La Torre-Luque A., Balle M., Bornas X. Altered Heart Rate Regulation in Adolescent Girls and the Vulnerability for Internalizing Disorders. *Frontiers in physiology.* 2018. Vol. 9. 852 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00852
26. Moodithaya S., Avadhany S.T. Gender differences in age-related changes in cardiac autonomic nervous function. *Journal of aging research*. 2012. 679345 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/679345

15. Southall DP, Johnston F, Shinebourne EA, Johnston PG. 24-hour electrocardiographic study of heart rate and rhythm patterns in population of healthy children. *British heart journal.* 1981;45(3):281–91. DOI: https://doi.org/10.1136/hrt.45.3.281
16. Nagashima M, Matsushima M, Ogawa A. Cardiac arrhythmias in healthy children revealed by 24-hour ambulatory ECG monitoring. *Pediatric cardiology.* 1987;8(2):103–8. DOI: https://doi.org/10.1007/BF02079464
17. Tseluiko VI, Radchenko OV. Holter monitoring in the diagnosis of heart rhythm and conduction disorders. *Medicine of Ukraine*. 2016;5–6:201–2. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.37987/1997-9894.2016.5-6(201-2).204729
18. Lazzerini PE, Laghi-Pasini F, Boutjdir M. Cardioimmunology of arrhythmias: the role of autoimmune and inflammatory cardiac channelopathies. *Nature reviews. Immunology.* 2019;19:63–4. DOI: https://doi.org/10.1038/s41577-018-0098-z
19. Altomare A, Guarino M, Cocca S, Emerenziani S, Cicala M. Gastroesophageal reflux disease: Update on inflammation and symptom perception. *World journal of gastroenterology.* 2013;19:6523–8. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i39.6523
20. Milovanovic B, Filipovic B, Mutavdzin S, Zdravkovic M, Gligorijevic T, Paunovic J, Arsic M. Cardiac autonomic dysfunction in patients with gastroesophageal reflux disease. *World journal of gastroenterology.* 2015;21(22):982–9. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i22.6982
21. Bhat YM, Bielefeldt K. Capsaicin receptor (TRPV1) and non-erosive reflux disease. *European journal of gastroenterology & hepatology.* 2006;18(3):263–70. DOI: https://doi.org/10.1097/00042737-200603000-00006
22. Ouaghlani K, Drissa M, Ben Othmen R, Msaad H, Hakim K, Ouarda F. The yield of 24-hour ambulatory electrocardiography in the assessment of symptomatic school-age children. *La Tunisie médicale*. 2023;101(8–9):698–703.
23. Linz D, Ukena C, Mahfoud F, Neuberger HR, Böhm M. Atrial autonomic innervation: a target for interventional antiarrhythmic therapy? *Journal of the American College of Cardiology.* 2014;63:215–24.
24. Kouvas N, Kontogiannis C, Georgiopoulos G, Spartalis M, Tsilimigras DI, Spartalis E. The complex crosstalk between inflammatory cytokines and ventricular arrhythmias. *Cytokine*. 2018;111:171–7. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.08.007
25. Fiol-Veny A, De La Torre-Luque A, Balle M, Bornas X. Altered Heart Rate Regulation in Adolescent Girls and the Vulnerability for Internalizing Disorders. *Frontiers in physiology.* 2018;9:852. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00852
26. Moodithaya S, Avadhany ST. Gender differences in age-related changes in cardiac autonomic nervous function. *Journal of aging research.* 2012;679345. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/679345

Перспективи подальших досліджень

Подальшими цілями дослідження є вивчення патогенетичних механізмів розвитку порушень серцевого ритму у підлітків з хронічними запальними процесами органів травлення, та виділення групи ризику хворих, які загрозливі щодо виникнення коморбідної патології з боку ССС.

Prospects for further research

Further research objectives are aimed at studying the pathogenetic mechanisms of development of cardiac arrhythmia in adolescents with chronic inflammatory processes of the digestive organs, and identifying a risk group of patients which are dangerous for the emergence of comorbid pathology from the cardiovascular system.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи.

Conflict of interest

The authors of the manuscript declare that they have no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.

Funding information

Funding by expenditures of the State Budget of Ukraine.

Подяка

Автори висловлюють подяку за допомогу у проведенні досліджень співробітникам клінічних відділень Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» та Комунальному некомерційному підприємству «Міська дитяча клінічна лікарня № 19» м. Харкова.

Acknowledgments

The authors are grateful for the help in conducting research to the staff of the clinical departments of the State Institution «Institute of Health Protection of Children and Adolescents of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» and Communal non-profit enterprise «City Children's Clinical Hospital № 19» of Kharkiv.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Крутенко Наталія Володимирівна – асистент кафедри педіатрії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: n.v.krutenko@karazin.ua
tel.: +38 (095) 655-99-93
Внесок автора: *відбір пацієнтів у рамках досліджуваної проблеми, написання статті.*

Шевченко Наталя Станіславівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри педіатрії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua
тел.: +38 (057) 262-50-19
Внесок автора: *редагування статті; остаточне затвердження статті.*

Зімницька Тетяна Василівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри педіатрії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: zimnytska@karazin.ua
тел.: +38 (067) 728-15-07
Внесок автора: *збір, обробка та аналіз інформації, написання статті.*

Волошин Костянтин Вікторович – кандидат медичних наук, доцент кафедри педіатрії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: konstantin.voloshin@karazin.ua
тел.: +38 (097) 708-47-05
Внесок автора: *статистична обробка отриманих даних, аналіз інформації, написання статті.*

Тараненко Оксана Богданівна – лікар-терапевт кафедри педіатрії та реабілітації Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України», просп. Ювілейний, буд. 52-а, м. Харків, Україна, 61153;
e-mail: taranenko441@gmail.com
тел.: +38 (097) 669-15-54
Внесок автора: *підбір пацієнтів, обстеження та лікування хворих.*

Павлова Ольга Сергіївна – доктор філософії, доцент кафедри педіатрії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд 4, Харків, Україна, 61022;
e-mail: pavlova@karazin.ua
тел.: +38 (067) 688-72-02
Внесок автора: *дослідження розробки дизайну, підбор літературних джерел за темою роботи.*

Кварацхелія Тамара Мерабівна – кандидат медичних наук, доцент, діагностичний медичний сонографіст Державної Установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України», просп. Ювілейний, буд. 52а, м. Харків, Україна, 61153;
e-mail: dr.tamriko76@gmail.com
тел.: +38 (093) 393-11-19
Внесок автора: *аналіз даних, інтерпретація, редагування статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Krutenko Nataliya Volodymyryvna – Assistant Professor of the Department of Pediatrics of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: n.v.krutenko@karazin.ua
tel.: +38 (095) 655-99-93
Author's contribution: *selecting patients in the scope of the study issue, writing the article.*

Shevchenko Natalia Stanislavivna – Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Pediatrics of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua
tel.: +38 (057) 262-50-19
Author's contribution: *critical revision of the article, final approval of the article.*

Zimnytska Tetyana Vasylivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pediatrics of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: zimnytska@karazin.ua
tel.: +38 (067) 728-15-07
Author's contribution: *collecting, processing and analyzing information, writing the article.*

Voloshyn Kostiantyn Viktorovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pediatrics of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: konstantin.voloshin@karazin.ua
tel.: +38 (097) 708-47-05
Author's contribution: *statistical processing the obtained data, analyzing information, writing the article.*

Taranenko Oksana Bohdanivna – Physician at the Department of Pediatrics and Rehabilitation of State Institution «Institute of Health Care of Children and Adolescents of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 52-a Yuvileiny Ave., Kharkiv, Ukraine, 61153;
e-mail: taranenko441@gmail.com
tel.: +38 (097) 669-15-54
Author's contribution: *selecting patients, examination and treatment of patients.*

Pavlova Olga Serhiivna – Doctor of Philosophy, Associate Professor of the Department of Pediatrics of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: pavlova@karazin.ua
tel.: +38 (067) 688-72-02
Author's contribution: *study design development, selection of literary sources on the topic of the work.*

Kvaratskheliya Tamara Merabivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, diagnostic medical sonographer of State Institution «Institute of Health Care of Children and Adolescents of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 52a Yuvileiny Ave., Kharkiv, Ukraine;
e-mail: dr.tamriko76@gmail.com
tel.: +38 (093) 393-11-19
Author's contribution: *data analysis interpretation, editing the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 06.06.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.08.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 306–313
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):306–313

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-03
УДК: 618.2/3:616.45-001.1/3."364"

Рівень ускладнень вагітності та пологів у мешканок прифронтового м. Харкова

Лахно І.В., https://orcid.org/0000-0002-7914-7296, e-mail: iv.lakhno@knmu.edu.ua

Харківський національний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна

The level of pregnancy and childbirth complications among the residents of front-line city of Kharkiv

Lakhno I.V., https://orcid.org/0000-0002-7914-7296, e-mail: iv.lakhno@knmu.edu.ua

Kharkiv National Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

війна, стрес, вагітність, пологи, ускладнення.

Для кореспонденції:

Лахно Ігор Вікторович
Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра акушерства та гінекології № 3;
просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: iv.lakhno@knmu.edu.ua

© *Лахно І.В., 2024*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Місто Харків знаходиться у ділянці бойових дій або у прифронтовій зоні з початку вторгнення російських військ. Частина жіночого населення репродуктивного віку постійно залишається у Харкові, що зумовлює можливий негативний вплив стресу воєнного часу.
Мета роботи – вивчення рівня ускладнень вагітності та пологів у жінок-мешканок м. Харкова.
Матеріали та методи. Проведено ретроспективне обсерваційне дослідження за матеріалами роботи Комунального некомерційного підприємства «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради. Усі обстежені були розподілені на три групи. До I групи було залучено 2914 жінок, які народили у 2021 році. У II групі було 956 пацієнток, вагітність яких закінчилась пологами у 2022 році. До III групи було включено 1288 жінок, які народжували протягом 2023 року. Дослідження проводилося шляхом вивчення медичних карток вагітних жінок у комп'ютерній автоматизованій системі міського перинатального центру.
Результати та їх обговорення. Рівень захворювань щитоподібної залози вірогідно збільшився у 2022 році, порівняно з довоєнним. У 2023 році тенденція до зростання продовжувала зберігатися. Відмічено вірогідне зростання захворюваності на цукровий діабет вагітних у 2023 році, порівняно з даними 2021 року. Цікаво, що рівень анемії та серцево-судинних захворювань залишався стабільним. Проте встановлено значне зростання інфекційних процесів сечовидільної системи у 2023 році, порівняно з попередніми роками. На жаль, встановлено суттєве зростання рівня травматизму матері в пологах. Це особливо стосувалося розривів піхви та шийки матки. Тому санація урогенітальної системи може бути запорукою зниження травматизму матері у пологах.
Висновки. За час військових дій відмічено зростання рівня екстрагенітальної патології серед вагітних у м. Харкові за рахунок збільшення деяких ендокринних захворювань та інфекцій органів сечовидільної системи.
Зростання розповсюдженості вагінальних інфекцій призвело до підвищення рівня розривів піхви та промежини. Це потребує акценту на моніторингу інфекції та своєчасній санації родових шляхів.
Застосування профілактичних заходів дозволило утримувати рівень великих акушерських синдромів у вигляді передчасних пологів, прееклампсії, а також рівень ускладнень пологового акту досить стабільним.
Встановлені особливості мають стати підґрунтям для подальшої роботи у напрямку зменшення негативних наслідків військової агресії на стан здоров`я вагітних у м. Харкові.

Для цитування:

Лахно І.В. Рівень ускладнень вагітності та пологів у мешканок прифронтового м. Харкова. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 306–313. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-03

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 306–313
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):306–313

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Key words:

war, stress, pregnancy, childbirth, complications.

For correspondence:

Lakhno Igor Victorovich
Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of obstetrics and gynecology № 3;
4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: iv.lakhno@knmu.edu.ua

© *Lakhno I.V., 2024*

ABSTRACT

Background. The city of Kharkiv has been located in the area of armed conflict or the front-line zone since the beginning of the invasion of Russian troops. A part of the female reproductive-aged population constantly remains in Kharkiv which determines the possible negative impact of wartime stress.
The purpose – of the work was to study the level of pregnancy and childbirth complications among women living in Kharkiv.
Materials and Methods. A retrospective observational study was conducted based on the materials of the municipal non-commercial enterprise «Municipal Perinatal Center» of the Kharkiv City Council. All the examined contingent was divided into three groups. 2914 women who gave birth in 2021 were included in Group I. There were 956 patients in Group II whose pregnancies were completed in term via childbirth in 2022. Group III included 1288 women who gave birth in 2023. The study was conducted by studying the cards of pregnant women in the computer-automated system of the perinatal center.
Results. The level of thyroid diseases was likely to increase in 2022 compared to the prior level. In 2023, the upward trend continued. A probable increase in the incidence of diabetes mellitus in pregnant women in 2023 compared to the data of 2021 was detected. Interestingly, the level of anemia and cardiovascular diseases remained stable. However, a significant increase in the urinary system's infectious processes was established in 2023 compared to previous years. Unfortunately, a substantial increase in the level of maternal trauma during childbirth has been established. This was especially true concern on vaginal and cervical tears. Therefore, sanitation of the urogenital system can be the key to reducing maternal trauma during childbirth.
Conclusions. During the military operations, an increase in the level of medical complications among pregnant women in the city of Kharkiv was noted due to a rise in some endocrine diseases and urinary tract infections.
The increase in the prevalence of vaginal infections has led to a rise in the rate of vaginal and perineal ruptures. This requires an emphasis on infection monitoring and timely sanitation of the birth canal.
The use of preventive measures made it possible to keep the level of major obstetric syndromes such as premature births, and pre-eclampsia, as well as the level of childbirth complications quite stable.
The established features should become the basis for further work in the direction of reducing the negative consequences of military aggression on the health of pregnant women in the city of Kharkiv.

For citation:

Lakhno IV. The level of pregnancy and childbirth complications among the residents of front-line city of Kharkiv. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):306–313. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-03

ВСТУП

Харківський регіон був залучений до активних бойових дій з самого початку вторгнення російських військ у лютому 2022 року. Відомий несприятливий вплив стресу воєнного часу на стан репродуктивного здоров`я жінок. При цьому відмічено підвищення рівня акушерських і перинатальних ускладнень як у мешканок прифронтової зони, так і у жінок-біженок або внутрішньопереміщених осіб [1, 2]. Тому питання про доцільність знаходження вагітних у містах, розташованих близько до зони збройного конфлікту, остаточно не вирішено.

Сприятливий перебіг вагітності залежить від повноцінного гестаційного ресеттінгу багатьох функціональних систем матері. Зміни автономної нервової регуляції спрямовані на підтримання матково-плацентарної гемодинаміки на тлі формування гіперволемії та зменшення периферичного опору судин [3]. Стрес має негативний вплив на серцево-судинну систему, імунний захист та метаболічні процеси.

INTRODUCTION

The Kharkiv region has been involved in active hostilities since the beginning of the Russian military invasion in February 2022. The adverse impact of wartime stress on women's reproductive health is well-known. An increase in obstetric and perinatal complications has been noted among both residents of frontline zones and refugee or internally displaced women [1, 2]. Therefore, the issue of whether pregnant women should stay in cities close to conflict zones remains unresolved.

A favorable course of pregnancy depends on the full gestational resetting of many functional systems of the mother. Changes in autonomic nervous regulation supported the uteroplacental hemodynamics against the background of hypervolemia formation and decreased peripheral vascular resistance [3]. Stress negatively affects the cardiovascular system, immune defense, and metabolic processes, which results in increased levels of pregnancy, labor, and postpartum complications [4].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Це позначається на збільшенні рівня ускладнень вагітності, пологів і післяпологового періоду [4].

Наявність екстрагенітальної патології (ЕГП) пов'язана з наявністю зниженої толерантності до несприятливих умов зовнішнього середовища, погіршенням стрес-лімітуючих механізмів. Характерними патогенетичними ланцюгами участі ЕГП у виникненні великих акушерських синдромів є оксидативний стрес, дисфункція ендотелія і тромбофілія [5]. Попередні дані свідчать про підвищення рівня серцево-судинних і ендокринних захворювань серед вагітних у м. Харкові [6]. Це викликає необхідність пошуку певних доповнень до існуючих протоколів ведення вагітності.

Мета роботи – вивчення рівня ускладнень вагітності та пологів у жінок-мешканок м. Харкова

The presence of internal diseases is associated with reduced tolerance to adverse environmental conditions and impaired stress-limiting mechanisms. The characteristic pathogenic links of EGP involvement in the development of major obstetric syndromes include oxidative stress, endothelial dysfunction, and thrombophilia [5]. Preliminary data indicate an increase in cardiovascular and endocrine diseases among pregnant women in Kharkiv [6]. This necessitates the search for certain additions to existing pregnancy management protocols.

Objective – the objective of this study was to examine the level of pregnancy and labor complications among women residents of Kharkiv.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Було проведено ретроспективне обсерваційне дослідження за матеріалами роботи Комунального некомерційного підприємства «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради. Роботу було виконано у межах НДР кафедри акушерства та гінекології №3 «Створення системи прогнозування, профілактики та лікування ускладнень вагітності, пологів і післяпологового періоду в жінок, які зазнали впливу стресу внаслідок військових дій». У роботі було проаналізовано дані щодо ускладнень процесу гестації та пологового акту за період 2021–2023 років. Всього у дослідження було включено 5158 пацієнток. Критеріями включення були вагітні жінки, які народили у цей період. Критеріями виключення були всі випадки спонтанного або штучного переривання вагітності до 22 тижня вагітності. Усі пацієнтки, які відповідали критеріям включення, дали інформовану згоду на участь у дослідженні. Усі обстежені були розподілені на три групи. До I групи було залучено 2914 жінок, які народили у 2021 році. У II групі було 956 пацієнток, вагітність яких закінчилась пологами у 2022 році. До III групи було включено 1288 жінок, які народжували протягом 2023 року.

Дослідження проводилося шляхом вивчення медичних карток вагітних жінок у комп'ютерній автоматизованій системі міського перинатального центру. Додатково до клінічних протоколів, затверджених Міністерством охорони здоров'я України, були використані рекомендації щодо догляду за вагітними жінками в умовах стихійного лиха [7]. Використовували критерії ACOG (Американського коледжу акушерів-гінекологів) для діагностки прееклампсії, анемії та гестаційного цукрового діабету [8–10].

Статистичний аналіз проводили за допомогою програми Statistical Package for the Social Sciences (SPSS для Windows, версія 25.0, Чикаго, Іллінойс, США). Критерій Фішера (лише для таблиць 2×2) використовувався як тест значущості для якісних даних. Значення p менше 0,05 вважалося статистично значущим.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective observational study was conducted based on the work materials of the Municipal Non-Commercial Enterprise «City Perinatal Center» of the Kharkiv City Council. The work was carried out within the framework of the research project of the Department of Obstetrics and Gynecology No 3 (0123U104315) «Creation of a system for predicting, preventing, and treating pregnancy, labor, and postpartum complications in women affected by wartime stress». Data on gestation and labor complications from 2021–2023 were analyzed. A total of 5,158 patients were included in the study. Inclusion criteria were pregnant women who gave birth during this period. Exclusion criteria were all cases of spontaneous or artificial termination of pregnancy before 22 weeks. All patients who met the inclusion criteria gave informed consent to participate in the study. All surveyed were divided into three groups: Group I included 2,914 women who gave birth in 2021; Group II included 956 patients whose pregnancies were completed in 2022; and Group III included 1,288 women who gave birth during 2023.

The study was conducted by reviewing the medical records of pregnant women in the computerized automated system of the city perinatal center. In addition to the clinical protocols approved by the Ministry of Health of Ukraine, recommendations for pregnant women in disaster conditions were used [7]. Criteria from ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) were used to diagnose pre-eclampsia, anemia, and gestational diabetes mellitus [8–10].

Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows version 25.0, Chicago, Illinois, USA). Fisher's exact test (for 2×2 tables only) was used as a significance test for qualitative data. A p-value of less than 0.05 was considered statistically significant.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані дані демонстрували значне зниження кількості пологів у воєнний час. Дані дослідження свідчили, що обстежені жінки суттєво не відрізнялися за віком та індексом маси тіла (ІМТ). Вік обстежених у I, II і III групах відповідно становив: 26,4 ± 5,8, 25,9 ± 6,1 та 26,1 ± 4,6 роки (p > 0,05). ІМТ у тих же групах був відповідно: 25,1 ± 4,7, 24,9 ± 5,2 і 25,4 ± 5,6 (p > 0,05).

При вивченні рівня ЕГП і великих акушерських синдромів у обстежених жінок були встановлені певні відмінності (табл. 1). Рівень захворювань щитоподібної залози вірогідно збільшився у 2022 році, порівняно з довоєнним. У 2023 році тенденція до зростання продовжувала зберігатися. Враховуючи значну роль щитоподібної залози у виношуванні вагітності, ці дані потребують прискіпливої уваги. Відмічено вірогідне зростання захворюваності на цукровий діабет вагітних у 2023 році, порівняно з даними 2021 року. Оскільки гестаційний цукровий діабет має спільні патогенетичні риси з прееклампсією, то й зв`язок із несприятливими стресогенними умовами воєнного стану є досить ймовірним. Цікаво, що рівень анемії та серцево-судинних захворювань залишався стабільним. Проте встановлено значне зростання інфекційних процесів сечовидільної системи у 2023 році порівняно з попередніми роками. Це відображало можливі зміни у імунному захисті вагітних і мало мати негативні проекції на перинатальні інфекції та післяпологові запальні захворювання [11, 12].

RESULTS AND DISCUSSION

The data showed a significant decrease in the number of births during wartime. The study data indicated that the surveyed women did not differ significantly in age and body mass index (BMI). The ages of those surveyed in Groups I, II, and III were 26.4 ± 5.8, 25.9 ± 6.1, and 26.1 ± 4.6 years respectively (p > 0.05). BMI in the same groups was 25.1 ± 4.7, 24.9 ± 5.2, and 25.4 ± 5.6 (p > 0.05).

When studying the level of internal diseases and great obstetric syndromes in the surveyed women, certain differences were identified (Table 1). The level of thyroid diseases significantly increased in 2022 compared to the pre-war period. In 2023, the trend continued to grow. Considering the significant role of the thyroid gland in pregnancy maintenance, these data require close attention. A significant increase in the incidence of gestational diabetes in 2023 compared to 2021 was noted. Since gestational diabetes shares common pathogenic features with preeclampsia, its connection with adverse stress conditions during wartime is quite likely. Interestingly, the levels of anemia and cardiovascular diseases remained stable. However, a significant increase in urinary system infections in 2023 compared to previous years was found. This reflected possible changes in the immune protection of pregnant women, that could have a negative effect on perinatal outcomes. A significant decrease in the level of preeclampsia was noted in 2022, followed by an increase in 2023, although the level of this complication remained significantly lower than in 2021. Medical efforts to prevent this complication may be maximized in 2022.

Таблиця 1. Показники ЕГП і деяких ускладнень вагітності в обстежених жінок
Table 1. EGP Indicators and Some Pregnancy Complications in Surveyed Women

Найменування захворювання або ускладнення вагітності Disease or Pregnancy Complication	Група I / Group I (n = 2914)	Група II / Group II (n = 956)	Група III / Group III (n = 1288)
Захворювання щитоподібної залози Thyroid disease	162 (5,5%)	78 (8,1%) P_1 = 0,009*	76 (5,9%) P_1 = 0,655; P_2 = 0,0533
Цукровий діабет Diabetes mellitus	48 (1,6%)	22 (2,3%) P_1 = 0,2090	34 (2,6%) P_1 = 0,0402*; P_2 = 0,6825
Анемія Anemia	195 (6,7%)	67 (7,0%) P_1 = 0,7674	106 (8,2%) P_1 = 0,1065; P_2 = 0,3386
Серцево-судинні захворювання Cardiovascular diseases	115 (3,9%)	40 (4,2%) P_1 = 0,7759	68 (5,3%) P_1 = 0,0719; P_2 = 0,2736
Інфекції сечовивідних шляхів і піхви Urinary and vaginal infections	131 (4,5%)	42 (4,4%) P_1 = 1,0	98 (7,6%) P_1 = 0,0002*; P_2 = 0,0035*
Передчасні пологи Premature births	222 (7,6%)	63 (6,6%) P_1 = 0,3540	81 (6,3%) P_1 = 0,1554; P_2 = 0,7948
Прееклампсія Preeclampsia	154 (5,3%)	28 (2,9%) P_1 = 0,0034*	54 (4,2%) P_1 = 0,1648; P_2 = 0.1397

Примітки:
P_1 – різниця порівняно з групою I;
P_2 – різниця порівняно з групою II;
* різниця статистично значуща (p < 0,05).

Notes:
P_1 – the difference compared to group I;
P_2 – the difference compared to group II;
* statistically significant difference (p < 0.05).

«Наріжним каменем» сучасного акушерства є зростання частоти ятрогенних передчасних пологів. Проте у нашій роботі рівень передчасних пологів був стабільним у всіх групах обстежених. Можливо, цьому додатково сприяло використання превентивних комбінацій для профілактики спонтанних передчасних по-

Differences in the incidence of obstetric and perinatal complications during childbirth and the postpartum period (Table 2) were less pronounced but statistically significant in some cases. A significant increase in the level of perineal tears in 2022 compared to 2021 was observed, and in 2023, this complication

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

логів: серкляжу, вагінального прогестерону і розвантажувального акушерського песарію [13].

Рівень прееклампсії вірогідно зріс у 2022 році, а потім стабілізувався. Це могло бути пов`язано з використанням програм скринінгу і профілактики цього захворювання.

Рівень ускладнень пологів і пуерперію майже по усім показникам залишався на довоєнному рівні (табл. 2). Частота виникнення кровотеч, пов'язаних з передчасним відшаруванням нормально розташованої плаценти або передлежанням плаценти, за час спостереження не збільшилася. Можна відзначити наявність тенденції до збільшення рівня аномалій родової діяльності у 2023 році. Вірогідно, це можна пояснити погіршенням умов до психологічної підготовки жінок до пологів, а також більш активною тактикою у індукції родової діяльності. Останнє пояснюється бажаним зменшенням тривалості перебування пацієнтки у пологовому відділенні внаслідок можливих обстрілів перинатального центру [6]. Частота післяпологових кровотеч була майже однаковою у всіх групах жінок. Це було зумовлено активним веденням III періоду пологів і профілактичним використанням утеротонічних засобів.

rate remained higher than in the pre-war period. These data may indicate not only the lower adaptive capacity of the pelvic floor tissues to stretch during childbirth but also changes in medical tactics. A significant increase in the frequency of vaginal and cervical tears in the post-war years was also noted. Thus, in 2023, the level of this complication was almost four times higher than in 2021. This complication is usually associated with the increased frequency of surgical delivery interventions. It should be noted that the level of labor anomalies in 2022 and 2023 was significantly higher than in 2021. This could be a consequence of stress, which significantly affects the neurohumoral regulation of the myometrium.

Таблиця 2. Ускладнення пологового акту і пуерперію, оперативні втручання в обстежених жінок
Table 2. Complications of Labor and Puerperium, Surgical Interventions in Surveyed Women

Найменування ускладнення пологів і післяпологового періоду Complication of Labor and Postpartum Period	Група I / Group I (n = 2914)	Група II / Group II (n = 956)	Група III / Group III (n = 1288)
Кровотечі, пов`язані з передлежанням або передчасним відшаруванням нормально розташованої плаценти Bleeding related to placental previa or premature placental abruption	72 (2,5%)	18 (1,9%) P_1 = 0,3857	26 (2,0%) P_1 = 0,4378; P_2 = 0,8785
Аномалії родової діяльності Labor anomalies	193 (6,6%)	79 (8,3%) P_1 = 0,1114	106 (8,2%) P_1 = 0,022; P_2 = 1,000
Післяпологова кровотеча Postpartum hemorrhage	37 (1,3%)	13 (1,4%) P_1 = 0,8690	18 (1,4%) P_1 = 0,7690; P_2 = 0,7690
Розриви промежини Perineal tears	278 (9,5%)	122 (12,8%) P_1 = 0,0131*	133 (10,3%) P_1 = 0,4675; P_2 = 0,1099
Розриви піхви та шийки матки Vaginal and cervical tears	69 (2,4%)	56 (5,9%) P_1 < 0,001*	120 (9,3%) P_1 < 0,001*; P_2 = 0,0054*
Кесарів розтин Cesarean section	1086 (37,3%)	352 (36,8%) P_1 = 0,8860	457 (35,9%) P_1 = 0,4568; P_2 = 0,6786
Вакуум-екстракція плода Vacuum extraction	21 (0,7%)	9 (0,9%) P_1 = 0,6706	11 (0,9%) P_1 = 0,7009; P_2 = 0,8246
Інструментальна ревізія матки Instrumental uterine revision	116 (4,0%)	25 (2,6%) P_1 = 0,0585	47 (3,6%) P_1 = 0,6654; P_2 = 0,2254
Балонна тампонада матки Uterine balloon tamponade	24 (0,8%)	8 (0,8%) P_1 = 1,0000	8 (0,6%) P_1 = 0,5676; P_2 = 0,6162
Перипартальна екстирпація матки Peripartum hysterectomy	7 (0,2%)	3 (0,3%) P_1 = 0,7161	3 (0,2%) P_1 = 1,0000; P_2 = 0,7044

Примітки:
P_1 – різниця порівняно з групою I;
P_2 – різниця порівняно з групою II;
* різниця статистично значуща ($p < 0,05$).

Notes:
P_1 – the difference compared to group I;
P_2 – the difference compared to group II;
* Statistically significant difference ($p < 0.05$).

На жаль, встановлено суттєве зростання рівня травматизму матері в пологах. Це особливо стосувалося розривів піхви та шийки матки. Якщо останнє можна пов`язати з недостатнім знеболенням пологів

In general, the study data confirmed the significant influence of wartime stress on pregnancy and childbirth outcomes. The presence of internal diseases increases the vulnerability of the pregnant body to

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

або використанням психопрофілактики на тлі стресу, то розриви піхви та промежини досить логічно були зумовлені вірогідним збільшенням розповсюдженості інфекцій піхви. Наявність розривів негативно впливала на можливість активної участі матері у догляді за новонародженим. Це погіршувало умови для реалізації доброзичливого ставлення до немовляти [14].

Рівень оперативних втручань у пологах і післяпологовому періоді залишався стабільним. Надвисокий показник абдомінального розродження останніми роками можна пояснити збільшенням кількості пацієнток з ЕГП, а також домінуванням розродження шляхом кесарева розтину при тазовому передлежанні [15]. Можна вважати, що активне застосування балонної тампонади матки було ефективним методом лікування ранніх післяпологових кровотеч. Це сприяло незначній кількості перипартальних гістеректомій останніми роками.

Отже, за даним проведеної роботи спостерігалося зростання рівня захворювань щитоподібної залози, цукрового діабету та інфекцій сечовивідних шляхів і піхви. Це робить наголос на ендокринній та інфекційній патології, що вимагає здійснення скринінгу на ці стани. Санація урогенітальної системи може бути запорукою зниження травматизму матері у пологах.

stress, which requires a personalized approach to pregnancy management in these conditions.

ВИСНОВКИ

За час воєнних дій відмічено зростання рівня ЕГП серед вагітних у м. Харкові за рахунок збільшення деяких ендокринних захворювань та інфекцій органів сечовидільної системи.

Зростання розповсюдженості інфекцій піхви призвело до підвищення рівня розривів піхви та промежини. Це потребує уваги на моніторинг інфекції та своєчасній санації родових шляхів.

Застосування профілактичних заходів дозволило утримувати рівень великих акушерських синдромів у вигляді передчасних пологів, прееклампсії, а також рівень ускладнень пологового акту, досить стабільним.

Встановлені особливості мають стати підґрунтям для подальшої роботи у напрямку зменшення негативних наслідків військової агресії на стан здоров`я вагітних у м. Харкові.

CONCLUSIONS

The study results indicate a significant impact of wartime stress on the level of certain pregnancy and childbirth complications among residents of Kharkiv. This effect was more pronounced in the presence of extragenital pathology. Further research should be aimed at developing additional measures to manage pregnancy in stress conditions. The data obtained necessitate the development of new protocols for pregnancy management and obstetric care during wartime.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Southall D. Armed conflict women and girls who are pregnant, infants and children; a neglected public health challenge. What can health professionals do? *Early Human Development.* 2011. № 87(11). P. 735–42. DOI: https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.08.020
2. Bakken K.S., Skjeldal O.H., Stray-Pedersen B. Immigrants from conflict-zone countries: an observational comparison study of obstetric outcomes in a low-risk maternity ward in Norway. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015. № 15. 163 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s12884-015-0603-3
3. Bester M., Joshi R., Mischi M., van Laar J.O.E.H., Vullings R. Longitudinally Tracking Maternal Autonomic Modulation During Normal Pregnancy With Comprehensive Heart Rate Variability Analyses. *Frontiers in Physiology.* 2022. № 13. 874684 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2022.874684
4. Naudé P.J.W, Claassen-Weitz S., Gardner-Lubbe S., Botha G., Kaba M., Zar H.J. et al. Association of maternal prenatal psychological stressors and distress with maternal and early infant faecal bacterial profile. *Acta Neuropsychiatrica.* 2020. № 1. P. 32–42. DOI: https://doi.org/10.1017/neu.2019.43

REFERENCES

1. Southall D. Armed conflict women and girls who are pregnant, infants and children; a neglected public health challenge. What can health professionals do? *Early Human Development.* 2011;87(11):735–42. DOI: https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.08.020
2. Bakken KS, Skjeldal OH, Stray-Pedersen B. Immigrants from conflict-zone countries: an observational comparison study of obstetric outcomes in a low-risk maternity ward in Norway. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015;15:163. DOI: https://doi.org/10.1186/s12884-015-0603-3
3. Bester M, Joshi R, Mischi M, van Laar JOEH, Vullings R. Longitudinally Tracking Maternal Autonomic Modulation During Normal Pregnancy With Comprehensive Heart Rate Variability Analyses. *Frontiers in Physiology.* 2022;13:874684. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2022.874684
4. Naudé PJW, Claassen-Weitz S, Gardner-Lubbe S, Botha G, Kaba M, Zar H., et al. Association of maternal prenatal psychological stressors and distress with maternal and early infant faecal bacterial profile. *Acta Neuropsychiatrica.* 2020;1:32–42. DOI: https://doi.org/10.1017/neu.2019.43

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

5. Levey E.J., Gelaye B., Koenen K., Zhong Q.Y., Basu A., Rondon M.B. et al. Trauma exposure and post-traumatic stress disorder in a cohort of pregnant Peruvian women. *Archives of Women's Mental Health*. 2018. № 2. P. 193–202. DOI: https://doi.org/10.1007/s00737-017-0776-z
6. Lakhno I. The Insight into Obstetric Care near the Front Line in Kharkiv. *Acta Medica Lituanica.* 2022. № 2. P. 236–244. DOI: https://doi.org/10.15388/Amed.2022.29.2.10
7. Joseph N.T., Curtis B.H., Goodman A. Disaster settings: Care of pregnant patients. *UpToDate*. 2022. URL: https://www.uptodate.com/contents/disaster-settings-care-of-pregnant-patients
8. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstetrics & Gynecology.* 2020. № 6. P. 237–260. DOI: https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003891
9. Anemia in Pregnancy: ACOG Practice Bulletin, Number 233. *Obstetrics & Gynecology.* 2021. № 2. P. 55–64. DOI: https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004477
10. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics & Gynecology.* 2018. № 2. P. 49–64. DOI: https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002501
11. Keasley J., Blickwedel J., Quenby S. Adverse effects of exposure to armed conflict on pregnancy: a systematic review. *BMJ Global Health.* 2017. № 4. 000377 p. DOI: https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000377
12. Curchoe C.L., Chang T.A., Trolice M.P., Telfer E.E., Quaas A.M., Kearns W.G., Stern J.E., Albertini D.F. Protecting life in a time of war. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2022. № 3. P. 555–557. DOI: https://doi.org/10.1007/s10815-022-02463-7
13. Luca A.M., Bernad E., Nemescu D., Vaduva C., Harabor A., Adam A.M., et al. Unraveling the efficacy of therapeutic interventions for short cervix: insights from a retrospective study for improved clinical management. *Medicina (Kaunas).* 2023. № 6. 1018 p. DOI: https://doi.org/10.3390/medicina59061018
14. Kuamoto R.S., Bueno M., Riesco M.L.G. Skin-to-skin contact between mothers and full-term newborns after birth: a cross-sectional study. *Revista brasileira de enfermagem.* 2021. № 74(suppl. 4). 20200026 p. DOI: https://doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0026
15. Caning M.M., Rasmussen S.C., Krebs L. Maternal outcomes of planned mode of delivery for term breech in nulliparous women. *PLoS One.* 2024. № 4. 0297971 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297971

5. Levey EJ, Gelaye B, Koenen K, Zhong QY, Basu A, Rondon MB, et al. Trauma exposure and post-traumatic stress disorder in a cohort of pregnant Peruvian women. *Archives of Women's Mental Health*. 2018;2:193–202. DOI: https://doi.org/10.1007/s00737-017-0776-z
6. Lakhno I. The Insight into Obstetric Care near the Front Line in Kharkiv. *Acta Medica Lituanica.* 2022;2:236–44. DOI: https://doi.org/10.15388/Amed.2022.29.2.10
7. Joseph NT, Curtis BH, Goodman A. Disaster settings: Care of pregnant patients. *UpToDate.* 2022. URL: https://www.uptodate.com/contents/disaster-settings-care-of-pregnant-patients
8. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstetrics & Gynecology.* 2020;6:237–60. DOI: https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003891
9. Anemia in Pregnancy: ACOG Practice Bulletin, Number 233. *Obstetrics & Gynecology.* 2021;2:55–64. DOI: https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004477
10. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics & Gynecology.* 2018;2:49–64. DOI: https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002501
11. Keasley J, Blickwedel J, Quenby S. Adverse effects of exposure to armed conflict on pregnancy: a systematic review. *BMJ Global Health.* 2017;4:000377. DOI: https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000377
12. Curchoe CL, Chang TA, Trolice MP, Telfer EE, Quaas AM, Kearns WG, et al. Protecting life in a time of war. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2022;3:555–7. DOI: https://doi.org/10.1007/s10815-022-02463-7
13. Luca AM, Bernad E, Nemescu D, Vaduva C, Harabor A, Adam AM, et al. Unraveling the efficacy of therapeutic interventions for short cervix: insights from a retrospective study for improved clinical management. *Medicina (Kaunas).* 2023;6:1018. DOI: https://doi.org/10.3390/medicina59061018
14. Kuamoto RS, Bueno M, Riesco MLG. Skin-to-skin contact between mothers and full-term newborns after birth: a cross-sectional study. *Revista brasileira de enfermagem.* 2021;74(4):20200026. DOI: https://doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0026
15. Caning MM, Rasmussen SC, Krebs L. Maternal outcomes of planned mode of delivery for term breech in nulliparous women. *PLoS One*. 2024;4:0297971. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297971

Перспективи подальших досліджень

Проведена робота є підставою для продовження аналізу поточних даних ефективності акушерсько-гінекологічної допомоги у прифронтових містах України. Це буде сприяти вдосконаленню міжнародного досвіду та створенню власних підходів до ведення вагітності та пологів у зоні збройного конфлікту.

Prospects for further research

The performed research is the basis for further analysis of current data on the effectiveness of obstetric and gynecological care in the frontline cities of Ukraine. This will contribute to the improvement of international experience and the creation of own approaches to the management of pregnancy and childbirth in the zone of armed conflict.

Конфлікт інтересів

Автор заперечує жодний конфлікт інтересів.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.

Funding information

Financed by the state budget of Ukraine.

Подяка

Автор висловлює щиру вдячність директору Комунального некомерційного підприємства «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради, Заслуженому лікарю України Коровай С.М. та усьому колективу закладу.

Acknowledgments

The author would like to express his greatest appreciation to the Director of municipal non-commercial enterprise «Municipal Perinatal Center» of the Kharkiv City Council the Honored Doctor of Ukraine S.M. Korovai and the entire team of the institution.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Лахно Ігор Вікторович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології № 3 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: iv.lakhno@knmu.edu.ua
моб.: +38 (095) 534-72-08
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Lakhno Igor Victorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of obstetrics and gynecology № 3 Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: iv.lakhno@knmu.edu.ua
tel.: +38 (095) 534-72-08
Author's contribution: *research concept and design, collection and/or assembly of data, data analysis and interpretatio, writing the article, critical revision of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 06.06.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.08.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 314–338
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):314–338

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04
УДК: 615.361.12.015.21.086.13:678.554:616.11-002.4

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда

Бєлочкіна І.В.[1], https://orcid.org/0000-0003-0090-2971, e-mail: ibelochkina@ukr.net
Чиж М.О.[1], https://orcid.org/0000-0003-0085-296X, e-mail: n.chizh@ukr.net
Слета І.В.[1], https://orcid.org/0000-0003-2072-5861, e-mail: isleta@ukr.net
Шканд Т.В.[2], https://orcid.org/0000-0001-5882-5054, e-mail: shkand.tanya@gmail.com

[1]Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків, Україна
[2]Товариство з обмеженою відповідальністю «Медичний центр Он Клінік Харків», Харків, Україна

Impact of extract of cryopreserved pig heart fragments in alginate hydrogel on electrophysiological indicators of rat hearts with myocardial cryonecrosis

Belochkina I.V.[1], https://orcid.org/0000-0003-0090-2971, e-mail: ibelochkina@ukr.net
Chyzh M.O.[1], https://orcid.org/0000-0003-0085-296X, e-mail: n.chizh@ukr.net
Sleta I.V.[1], https://orcid.org/0000-0003-2072-5861, e-mail: isleta@ukr.net
Skand T.V.[2], https://orcid.org/0000-0001-5882-5054 e-mail: shkand.tanya@gmail.com

[1]Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Limited Liability Company «Medical Centre On Clinic Kharkiv», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят, кріодеструкція серця, альгінатний гідрогель.

Для кореспонденції:

Чиж Микола Олексійович
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, відділ експериментальної кріомедицини;
вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;
e-mail: n.chizh@ukr.net

© *Бєлочкіна І.В., Чиж М.О., Слета І.В., Шканд Т.В., 2024*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Проблема стимуляції репаративної регенерації міокарда при ішемічній хворобі серця (ІХС) є актуальною і вимагає поглиблених експериментальних і клінічних досліджень. Саме тому в даний час значна увага приділяється дослідженням ефективності і механізмів дії регенеративно-пластичної терапії при патологічних станах серцево-судинної системи. Для запобігання серцевої аневризми в ранній післяінфарктний період і для лікування прогресуючої хронічної серцевої недостатності в якості хірургічних імплантатів використовуються полімерні гідрогелі, які біодеградують, в тому числі альгінатні полісахаридні гідрогелі.
Мета роботи – аналіз електрофізіологічних показників серця при розвитку некрозу та ремоделюванні органа на моделі кріодеструкції міокарда і введення альгінатного імплантата, насиченного екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕсцП), для визначення ефекту кардіопротекторної дії цих чинників.
Матеріали та методи. Реєстрацію електрокардіограм (ЕКГ) здійснювали в трьох стандартних (I, II, III) і трьох додаткових (avR, avL, avF) відведеннях на апаратно-програмному комплексі «Полі-Спектр/8В» («Полі-Спектр», Україна). Програма «Полі-Спектр-Аналіз» дозволяє проводити контурний аналіз усередненого кардіокомплексу. На початку ми проводили експеримент по впливу самого альгінатного гідрогелю натрію на електрокардіографічні показники без кріопошкодження серця. В подальшому експериментальні тварини були розподілені на три групи: 1 – контроль, тварини з некрозом міокарда (НМ) без лікування, 2 – щури з НМ і введеним в зону кріонекрозу імплантатом (гідрогелем альгінату натрію), 3 – щури з НМ і введеним в зону кріонекрозу альгінатним імплантатом, насиченим ЕСцП. Групу норми склали 7 щурів.
Результати та їх обговорення. Було показано, що використання екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят в альгінатному носії на тлі інфаркту міокарда, викликаного локальною кріодеструкцією серця, сприяє прискореному

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

відновленню міокарда лівого шлуночка відносно контролю і експериментальних груп з введенням альгінатного гідрогелю, що має відповідні підтвердження на електрокардіограмах: наявність позитивного зубця P на 1-шу добу свідчить про збереження джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла; відновлення до рівня норми зубця R на 7-му добу свідчить про відновлення скоротливої функції міокарда; на 30-ту добу спостереження в групі з ЕСцП в альгінатному гелі форма комплексу QRS відповідає нормі, а ознаки ремоделювання серця є мінімальними, про що свідчить відсутність тварин із зареєстрованим зубцем Q, тоді як в інших групах до 40% тварин мають ознаки перенесеного трансмурального некрозу міокарда зі збереженням на ЕКГ зубця Q.
Висновки. Аналіз електрокардіограм здорових щурів після введення альгінатного гідрогелю у серцевий м'яз показав, що зберігається правильний синусовий ритм, комплекси QRST зберігають свою форму і тривалість, тобто альгінатний імплантат не сприяє появі патологічних змін на ЕКГ. Показано, що альгінатний імплантат при введенні в зону інфаркту міокарда представляє собою індиферентну речовину, яка не посилює деструктивні та запальні процеси, і може бути використана в якості носія біологічно-активних речовин або лікарських засобів для їх доставки в зону пошкодження. На 30-ту добу спостереження в групі з ЕСцП в альгінатному гелі форма комплексу QRS відповідає нормі, а ознаки ремоделювання серця є мінімальними, про що свідчить відсутність тварин із зареєстрованим зубцем Q, тоді як в інших групах до 40% тварин мають ознаки перенесеного трансмурального некрозу міокарда зі збереженням на ЕКГ зубця Q.

Для цитування:

Бєлочкіна І.В., Чиж М.О., Слета І.В., Шканд Т.В. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 314–338. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04

Key words:

extract of cryopreserved pig heart fragments, heart cryodestruction, alginate hydrogel.

For correspondence:

Chyzh Mykola Oleksiiovych
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; department experimental of cryomedicine;
23 Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;
e-mail: n.chizh@ukr.net

© *Belochkina I.V., Chyzh M.O., Sleta I.V., Shkand T.V., 2024*

ABSTRACT

Background. The issue of stimulating reparative myocardial regeneration in ischemic heart disease (IHD) is a pressing one, requiring in-depth experimental and clinical research. Consequently, considerable attention is currently being paid to studies on the effectiveness and mechanisms of action of regenerative plastic therapy for pathological conditions of the cardiovascular system. To prevent cardiac aneurysms in the early post-infarction period and to treat progressive chronic heart failure, biodegradable polymer hydrogels, including alginate polysaccharide hydrogels, are used as surgical implants.
Purpose – analysis of electrophysiological indicators of the heart during the development of necrosis and organ remodeling in a myocardial cryodestruction model and the introduction of an alginate implant saturated with an extract of cryopreserved pig heart fragments to determine the cardioprotective effect of these factors.
Materials and Methods. Electrocardiograms (ECGs) were recorded in three standard leads (I, II, III) and three additional leads (aVR, aVL, aVF) using the «Poly-Spectrum/8V» hardware-software complex («Poly-Spectrum», Ukraine). The «Poly-Spectrum-Analysis» software allows for contour analysis of the averaged cardiocomplex. Initially, we conducted an experiment to assess the impact of sodium alginate hydrogel alone on electrocardiographic parameters without heart cryoinjury. Subsequently, the experimental animals were divided into three groups: 1 – control group, animals with myocardial necrosis (MN) without treatment; 2 – rats with MN and an implant (sodium alginate hydrogel) introduced into the cryonecrosis area; 3 – rats with MN and an alginate implant saturated with cryopreserved pig heart extract (CPHE) introduced into the cryonecrosis area. The normal group consisted of 7 rats.
Results. The use of an extract from cryopreserved heart fragments of piglets, delivered via an alginate carrier, in the context of myocardial infarction induced by local cryodestruction of the heart, significantly accelerates the recovery of the left ventricular myocardium compared to both the control group and the experimental groups receiving alginate hydrogel alone. This is supported by electrocardiographic evidence: a positive P wave on the first day indicates the preservation of the myocardial excitation source at the sinoatrial node level; recovery of the R wave to normal levels by the seventh day reflects the restoration of myocardial contractile function; and on the 30th day, the group treated with the ECP in alginate gel shows a QRS complex shape that conforms to normal standards, with minimal cardiac remodeling as evidenced by the absence of a Q wave in the ECG. In contrast, up to 40% of animals in other groups exhibit signs of transmural myocardial necrosis, indicated by the persistent presence of the Q wave.
Conclusions. Analysis of the electrocardiograms (ECGs) of healthy rats after the introduction of the alginate hydrogel into the heart muscle showed that the correct

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

sinus rhythm is maintained, and the QRS-T complexes retain their shape and duration, indicating that the alginate implant does not cause pathological changes in the ECG. It was demonstrated that the alginate implant, when introduced into the myocardial infarction area, is an indifferent substance that does not exacerbate destructive and inflammatory processes and can be used as a carrier for biologically active substances or drugs for delivery to the damaged area. On the 30th day of observation, in the group with CPHE in the alginate gel, the shape of the QRS complex corresponds to the norm, and signs of heart remodeling are minimal, as evidenced by the absence of animals with a registered Q wave. In contrast, up to 40% of animals in other groups show signs of previous transmural myocardial necrosis with the persistence of the Q wave on the ECG.

For citation:

Belochkina IV, Chyzh MO, Sleta IV, Shkand TV. Impact of extract of cryopreserved pig heart fragments in alginate hydrogel on electrophysiological indicators of rat hearts with myocardial cryonecrosis. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):314–338. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04

ВСТУП

Ішемічна хвороба серця (ІХС) є важливою соціально-економічною проблемою в усіх країнах світу. Її лікування і вторинна профілактика є комплексом заходів, що включає медикаментозну терапію, зокрема, застосування антиангінальних, а при необхідності також протиаритмічних засобів, кардіотоніків і т.ін. При тривалому застосуванні таких препаратів можливі побічні реакції [1].

Недоліком коронарної ангіопластики, яка може проводитися при ІХС, є виникнення рестенозів, оскільки атеросклероз вінцевих артерій продовжує прогресувати, залучаючи нові ділянки судинного русла і збільшуючи стенозування раніше уражених судин [2]. Відновлення мікроциркуляторного русла міокарда хірургічними методами вирішити неможливо.

У зв'язку з цим, проблема стимуляції репаративної регенерації міокарда при ІХС є актуальною і потребує поглиблених експериментальних і клінічних досліджень. Саме тому на сьогодні значна увага приділяється дослідженням ефективності і механізмів дії регенеративно-пластичної терапії при патологічних станах серцево-судинної системи [3]. В останні десятиліття значно зріс інтерес до використання регуляторних пептидів при лікуванні різних захворювань, в тому числі і при ІХС [3, 4].

В наших попередніх роботах показано, що при використанні кріобіологічних технологій можна отримати екстракти фрагментів органів свиней і поросят з високою біологічною активністю. Їх дія проявляється в стимуляції процесів репаративної регенерації при експериментальних патологіях відповідних органів, і їх дія органоспецифічна і видонеспецифічна [5]. Для запобігання серцевої аневризми в ранній післяінфарктний період і для лікування прогресуючої хронічної серцевої недостатності в якості хірургічних імплантатів використовуються полімерні гідрогелі, які біодеградують, в тому числі альгінатні полісахаридні гідрогелі. Біоматеріали на основі гідрогелю також використовуються в клінічній фармакології в якості транспортних систем для цілеспрямованої доставки ліків [6, 7] і клітин [8, 9]. Для доставки ліків гідрогелі повинні переважно знижувати в'язкість при ін'єкції і швидко відновлюватися після зняття стресу

INTRODUCTION

Ischemic heart disease (IHD) represents a significant socioeconomic issue worldwide. Its treatment and secondary prevention involve a complex of measures including pharmacotherapy, such as anti-anginal agents, and when necessary, antiarrhythmics, cardiotonics, etc. Prolonged use of such medications can lead to potential side effects [1].

One drawback of coronary angioplasty, commonly performed in IHD, is the occurrence of restenosis due to the continued progression of atherosclerosis in coronary arteries, involving new segments of the vascular bed and increasing stenosis in previously affected vessels [2]. Surgical restoration of myocardial microcirculation is currently unattainable.

Therefore, stimulating myocardial reparative regeneration in IHD remains a pertinent issue necessitating in-depth experimental and clinical research. Consequently, significant attention is directed towards evaluating the effectiveness and mechanisms of action of regenerative-plastic therapy in cardiovascular pathologies [3]. Over the last decades, there has been a substantial increase in interest in the use of regulatory peptides for treating various diseases, including IHD [3, 4].

Our previous work demonstrated that employing cryobiological technologies allows for the extraction of organ fragments from pigs and piglets with high biological activity. Their action stimulates processes of reparative regeneration in experimental pathologies of respective organs, exhibiting both organ-specific and non-specific effects [5]. Biodegradable polymer hydrogels, including alginate polysaccharide hydrogels, are employed as surgical implants to prevent early post-infarction cardiac aneurysms and treat progressive chronic heart failure. Hydrogel-based biomaterials are also utilized in clinical pharmacology as delivery systems for targeted drug [6, 7] and cell transport [8, 9]. Hydrogels used for drug delivery should primarily reduce viscosity upon injection and quickly restore after stress removal, forming a gel depot for drug release. Our previous research demonstrated that the half-life of dense alginate hydrogel in rat myocardium is approximately 8 days, sufficient to prevent early left ventricular aneurysm rupture [10].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

з утворенням депо гелю для вивільнення лікарського засобу. Нашими попередніми дослідженнями було доведено, що період напіврозпаду щільного альгінатного гідрогелю в міокарді щурів становить близько 8 діб, що є достатнім для запобігання раннього розриву аневризми лівого шлуночка [10]. На даному етапі роботи ми досліджували можливість поліпшення біодоступності пептидних комплексів з екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят за допомогою використання їх у складі альгінатного гідрогелю і вплив такої композиції на електрофізіологічні показники серця щурів з експериментальним некрозом міокарда.

Мета роботи – аналіз електрофізіологічних показників серця при розвитку некрозу та ремоделюванні органа на моделі кріодеструкції міокарда і введення альгінатного імплантата, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят, для визначення ефекту кардіопротекторної дії цих чинників.

At this stage of our research, we investigated the potential enhancement of peptide complex bioavailability from extract of cryopreserved pig heart fragments using them in conjunction with alginate hydrogel and the impact of this composition on the electrophysiological indicators of rat hearts with experimental myocardial necrosis.

Objective – the aim of the research was to analyze the electrophysiological indicators of the heart during the development of necrosis and organ remodeling in a myocardial cryodestruction model, specifically focusing on the introduction of an alginate implant saturated with extract of cryopreserved pig heart fragments. This was done to determine the cardioprotective effect of these factors.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведені відповідно до принципів біоетики, викладених в Законі України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№1759 від 15.12.2009) і «Європейській конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Методики затверджені комісією з біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (м. Харків).

Екстракти одержували в операційній віварію Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України з фрагментів сердець новонароджених поросят, яких доставляли з агрокомбінату «Слобожанський» Чугуївського району Харківської області. Отримання екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця проводили згідно з методикою [11, 12]. Дослідження впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) у складі альгінатного гелю при кріонекрозі міокарда проводили на 119 нелінійних щурах-самцях масою 180–250 г. Некроз міокарда (НМ) моделювали під інгаляційним наркозом шляхом впливу на стінку лівого шлуночка кріоінструментом «КД-3» (Національний науковий центр «Харківський фізико-технічний інститут» Національної академії наук України) з діаметром аплікатора 3 мм при температурі робочої поверхні –195°С протягом 30 с. Оперативний доступ здійснювали в 4–5 міжребер'ї [13].

Одночасно з моделюванням кріонекрозу серця, в зону пошкодження на глибину 1 мм вводили 0,03 мл 10% розчину глюконату кальцію і 0,04 мл 1% розчину альгінату натрію [10]. Розчини послідовно вичавлювали з шприца, не перемішуючи. Щоб уникнути витоку ін'єкційного розчину, голку видаляли з міокарда з затримкою в 4–5 с. Взаємодія альгінату натрію з глюконатом кальцію у м'язовій тканині серця відбувалася *in situ* з утворенням щільного альгінатного імплантата (АГІ). Для отримання імплантата, насиченого ЕСцП до 0,03 мл 1% розчину альгінату

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted in accordance with bioethical principles outlined in the Law of Ukraine «On Protection of Animals from Cruelty» (No. 1759 dated 15.12.2009) and the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes» (Strasbourg, 1986). The methodologies were approved by the Bioethics Committee of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv).

Extracts were obtained in the vivarium of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine from fragments of hearts of newborn pigs delivered from the agro-combine «Slobozhansky» in Chuhuiv district of Kharkiv region. Extraction of cryopreserved heart fragment extracts was performed according to methodologies [11, 12]. The study of the effect of extract of cryopreserved pig heart fragments (ECHF) within alginate gel in myocardial cryonecrosis was conducted on 119 non-linear male rats weighing 180–250 g. Myocardial necrosis (NM) was induced under inhalation anesthesia by applying the cryoinstrument «KD-3» (National Scientific Center «Kharkiv Physical and Technical Institute» of the National Academy of Sciences of Ukraine) to the left ventricular wall with an applicator diameter of 3 mm at a working surface temperature of minus 195°C for 30 s. Surgical access was through the 4–5 intercostal spaces [13].

Simultaneously with myocardial cryonecrosis modeling, into the damaged area to a depth of 1 mm, 0.03 mL of 10% calcium gluconate solution and 0.04 mL of 1% sodium alginate solution were injected [10]. The solutions were sequentially injected without mixing. To prevent leakage of the injection solution, the needle was kept in the myocardium for 4–5 seconds. Interaction of sodium alginate with calcium gluconate in myocardial tissue occurred in situ, forming a dense alginate implant (AGI). To obtain an implant saturated with ECHF,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

натрію додавали 0,01 мл ЕСцП, в якому містилося 100 мкг/мл пептидів.

На початку ми проводили експеримент по впливу самого альгінатного гідрогелю натрію на електрокардіографічні показники без кріопошкодження серця. В подальшому експериментальні тварини були розподілені на три групи: 1 – контроль, тварини з НМ без лікування, 2 – щури з НМ і введеним в зону кріонекрозу імплантатом (гідрогелем альгінату натрію), 3 – щури з НМ і введеним в зону кріонекрозу альгінатним імплантатом, насиченим ЕСцП. Групу норми склали 7 щурів.

Реєстрацію електрокардіограм (ЕКГ) здійснювали в трьох стандартних (I, II, III) і трьох додаткових (avR, avL, avF) відведеннях на апаратно-програмному комплексі «Полі-Спектр/8В» («Полі-Спектр», Україна). Програма «Полі-Спектр-Аналіз» дозволяє проводити контурний аналіз усередненого кардіокомплексу. Аналіз полягає у вимірюванні часових інтервалів і амплітуд елементів кардіограми. Запис ЕКГ здійснювали в умовах, максимально наближених до вільної поведінки тварин [14].

Контурний аналіз ЕКГ був представлений за такою схемою [15]:

I. Аналіз серцевого ритму і провідності:
а) оцінка регулярності серцевих скорочень;
б) підрахунок ЧСС;
в) визначення джерела збудження;
г) оцінка функції провідності.

II. Визначення поворотів серця навколо передньо-задньої, поздовжньої і поперечної осей.

III. Аналіз передсердного зубця Р.

IV. Аналіз шлуночкового комплексу QRST:
а) аналіз комплексу QRS;
б) аналіз сегмента RS-T;
в) аналіз зубця Т;
г) аналіз інтервалу Q-T.

0.01 mL of ECHF containing 100 μg/mL of peptides was added to 0.03 mL of 1% sodium alginate solution.

Initially, an experiment was conducted to assess the impact of sodium alginate hydrogel itself on electrocardiographic parameters without myocardial cryo-injury. Subsequently, experimental animals were divided into three groups: 1 – control, animals with NM without treatment; 2 – rats with NM and implanted with sodium alginate hydrogel in the area of cryonecrosis; 3 – rats with NM and implanted with alginate implant saturated with ECHF in the area of cryonecrosis. The control group consisted of 7 rats.

Electrocardiogram (ECG) recordings were performed in three standard leads (I, II, III) and three augmented leads (avR, avL, avF) using the hardware-software complex «Poly-Spectrum/8B» («Poly-Spectrum», Ukraine). The «Poly-Spectrum Analysis» program allowed for contour analysis of the averaged cardiac complex. The analysis involved measuring time intervals and amplitudes of the elements of the electrocardiogram. ECG recordings were conducted under conditions as close as possible to free animal behavior [14].

The contour analysis of ECG was structured as follows [15]:

I. Analysis of heart rhythm and conductivity:
a) assessment of heart rate regularity;
b) heart rate calculation;
c) determination of the source of excitation;
d) assessment of conduction function.

II. Determination of heart rotations around the anterior-posterior, longitudinal, and transverse axes.

III. Analysis of atrial P-wave.

IV. Analysis of ventricular complex QRST:
a) QRS complex analysis;
b) RS-T segment analysis;
c) T-wave analysis;
d) Q-T interval analysis.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В нормі на ЕКГ у щурів спостерігали зубець Р, розташований перед комплексом QRS вище ізолінії. Це є свідченням, що джерелом збудженням виступає синоатріальний вузол.

Тривалість зубця Р в нормі становила 25,8 ± 0,5 мс. Амплітуда зубця Р досягала 0,03 мВ, при цьому він є «двогорбий», оскільки спочатку відбувається збудження правого, а потім лівого передсердя (рис. 1).

Аналіз усередненого QRS комплексу показав, що у II відведенні зубці q і s були відсутні. Тривалість зубця R становила 29 ± 0,88 мс, а амплітуда зубця R – 0,27±0,02 мВ. Сегмент ST також не завжди можна було візуалізувати. Періодично виникав дрейф («плавання») ізолінії в результаті порушення контактів електродів зі шкірою, що ускладнювало в ряді випадків коректне виділення кордонів зубців. Наступним після комплексу QRS реєстрували зубець Т, амплітуда якого в нормі дорівнювала 0,10±0,02 мВ, що становило близько 1/3 зубця R. Електрична систола шлуночків (інтервал QT), від якої залежить частота серцевих скорочень, в нормі становила 77,6±1,5 мс.

Електрокардіографічний висновок у групі норми виглядав таким чином:

1) джерело ритму – синусовий ритм;

RESULTS AND DISCUSSION

In the normal ECG of rats, a P wave was observed positioned above the baseline preceding the QRS complex. This indicates that the source of excitation is the sinoatrial node.

The duration of the P wave was 25.8 ± 0.5 ms within normal limits. The amplitude of the P wave reached 0.03 mV, and it is «biphasic» because excitation occurs first in the right atrium and then in the left atrium (Fig. 1).

Analysis of the averaged QRS complex showed that in Lead II, q and s waves were absent. The duration of the R wave was 29 ± 0.88 ms, and the amplitude of the R wave was 0.27 ± 0.02 mV. The ST segment was not always visualized consistently. Periodically, there was drift (baseline wander) due to electrode-skin contact issues, which occasionally complicated the accurate delineation of wave boundaries. Following the QRS complex, the T wave was recorded, with a normal amplitude of 0.10 ± 0.02 mV, approximately one-third of the R wave. The electrical systole of the ventricles (QT interval), which determines the heart rate, was normal at 77.6 ± 1.5 ms.

The electrocardiographic findings in the control group were as follows:

1) Rhythm source – sinus rhythm;

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

2) регулярність ритму – правильний ритм;
3) ЧСС = 408 ± 15 скорочень на хвилину;
4) положення середньої електричної вісі серця (кут α) + 47,8° ± 5,5 (зазначимо, що у людини в нормі кут α становить від + 30° до + 69°).

2) Rhythm regularity – regular rhythm;
3) HR = 408 ± 15 beats per minute;
4) Mean electrical axis of the heart (angle α) +47.8° ± 5.5 (note that in humans, the normal angle α ranges from +30° to +69°).

Рис. 1. Електрокардіографічний комплекс P-QRS-T щура в нормі (II відведення):
чорні стрілки – проведення електричного сигналу по передсердям; червона – проведення електричного сигналу по шлуночках
Fig. 1. Electrocardiographic complex P-QRS-T of a rat in normal condition (Lead II):
black arrows – conduction of electrical signal through the atria; red arrow - conduction of electrical signal through the ventricles

Вплив альгінатного гідрогелю на проведення електричного сигналу в серці щурів

Першим завданням було з'ясування, чи впливає сам альгінатний гідрогель на функціональний стан міокарда щурів. На 1-шу добу після введення альгінатного гелю в міокард перед кожним комплексом QRS реєстрували зубець P вище ізолінії, що свідчило про правильний синусовий ритм.

Електрокардіографічні комплекси QRS зберігали свою форму і тривалість. Тривалість і амплітуда зубця R достовірно не відрізнялася від показників зубця R в групі норми (29,3±0,6 мс і 31±0,03 мВ відповідно) (рис. 2.). Амплітуда зубця T знижувалася до 0,06 ± 0,01 мВ, що можливо свідчило про розвиток стану гіпоксії, пов'язаного з перенесеною операційною травмою.

Effect of alginate hydrogel on conduction of electrical signal in rat hearts

The initial task was to determine whether the alginate hydrogel itself affects the functional state of the rat myocardium. Within the first day after injection of alginate gel into the myocardium, the P wave was consistently recorded above the baseline before each QRS complex, indicating sinus rhythm.

The QRS complexes on electrocardiograms retained their shape and duration. The duration and amplitude of the R wave did not significantly differ from those in the control group (29.3±0.6 ms and 31±0.03 mV, respectively) (Fig. 2). The amplitude of the T wave decreased to 0.06 ± 0.01 mV, possibly indicating the development of hypoxic conditions related to the surgical trauma.

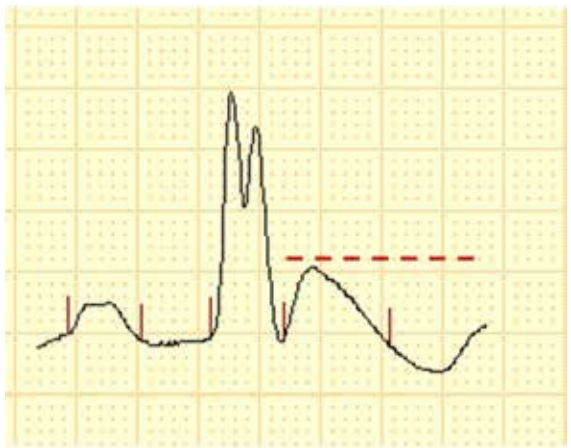


Рис. 2. Електрокардіографічний комплекс P-QRS-T щура на 1-шу добу після введення альгінатного імплантата (II відведення). Пунктирна лінія – обмеження амплітуди зубця T
Fig. 2. Electrocardiographic complex P-QRS-T of a rat on the first day after the introduction of the alginate implant (Lead II). Dashed line – T wave amplitude limit

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Незначно знижувалася тривалість інтервалу QT (73,3 ± 2,8 мс), що відповідало збільшенню ЧСС в цій групі до 426 ± 20 скорочень/хв на тлі оперативного втручання. Відзначали зменшення кута α до 36 ± 4,9°, що свідчило про можливу зміну положення електричної вісі серця ближче до горизонтальної лінії.

Надалі, на 7-му добу та на всі наступні терміни спостереження показники контурного аналізу ЕКГ щурів цієї групи не відрізнялися від величин шлуночкових комплексів групи норми.

Таким чином, введення інтактним щурам альгінатного імплантата в міокард лівого шлуночка не приводило до істотних змін на ЕКГ. Електрокардіографічні висновки за всіма строками спостереження такі:

1) джерело ритму – синусовий ритм;

2) регулярність ритму – правильний ритм;

3) ЧСС = 419 ± 2,9 скорочень в хвилину;

4) положення середньої електричної вісі серця (кут α) + 40,7° ± 1,8.

Отже, за результатами електрокардіографічного дослідження було підтверджено, що альгінатний імплантат не сприяє появі патологічних змін на ЕКГ, тобто за ЕКГ не знайдено протипоказань до використання його в якості носія біологічно активних речовин або лікарських засобів.

Електрокардіографічні показники щурів в дослідних групах на 1-шу добу після кріокардіодеструкції

Використання моделі локальної кріодеструкції міокарда дозволило сформувати зону пошкодження серця і отримати відповідні, характерні для інфаркту міокарда, зміни в ЕКГ [13].

Наслідки перенесеного кріовпливу на серце, насамперед, відбивалися на зубці Р, його відсутності або наявності негативного зубця Р у більшості тварин, що свідчило про порушення нормальної провідності серцевої тканини (рис. 3).

Поява негативного зубця Р на 1-шу добу після кріовпливу пов'язана з тим, що роль водія ритму в серці взяв на себе не синоатріальний, а атріовентрикулярний вузол, і передача збудження проходить в ретроградному напрямку, що є результатом гіпоксії та пошкодження міокарда, а також наявності метаболічних і електролітних порушень.

There was a slight decrease in the QT interval duration (73.3 ± 2.8 ms), corresponding to an increased heart rate in this group (426 ± 20 beats/min) during the operative intervention. A decrease in the angle α to 36 ± 4.9° was noted, suggesting a possible change in the position of the heart's electrical axis closer to the horizontal line.

Subsequently, on the 7th day and all subsequent observation periods, the ECG contour analysis indicators of the rats in this group did not differ from the ventricular complex values of the control group.

Thus, the introduction of the alginate implant into the left ventricular myocardium of intact rats did not lead to significant changes on the ECG. The electrocardiographic conclusions for all observation periods are as follows:

1) Source of rhythm – sinus rhythm;

2) Rhythm regularity – regular rhythm;

3) HR = 419 ± 2.9 beats per minute;

4) Position of the mean electrical axis of the heart (angle α) + 40.7° ± 1.8.

Therefore, the results of the electrocardiographic study confirmed that the alginate implant does not contribute to the appearance of pathological changes on the ECG, meaning no contraindications were found for its use as a carrier of biologically active substances or drugs based on the ECG data.

Electrocardiographic indicators of rats in the experimental groups on the first day after cryocardiodestruction

The use of the local myocardial cryodestruction model made it possible to form a damaged area of the heart and obtain corresponding changes in the ECG characteristic of myocardial infarction [13].

The consequences of the cryo-exposure on the heart were primarily reflected in the P wave, its absence, or the presence of a negative P wave in most animals, indicating impaired normal cardiac tissue conduction (Fig. 3).

The appearance of a negative P wave on day 1 after cryo-exposure is associated with the atrioventricular node taking over as the pacemaker of the heart instead of the sinoatrial node, leading to retrograde conduction. This is a result of hypoxia and myocardial damage, as well as metabolic and electrolyte shifts.

Рис. 3. Електрокардіограма щура після 30 с кріовпливу на серце, 1-ша доба: чорна стрілка – негативний зубець Р; червона стрілка – зубець QS; зелена – негативний зубець Т; овал – реципрокні зміни в avR відведенні
Fig. 3. Electrocardiogram of a rat after 30 seconds of cryo-exposure to the heart, 1 day:
Black arrow – negative P wave; Red arrow – QS complex; Green arrow – negative T wave; Oval – reciprocal changes in avR lead

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Кріодія протягом 30 с призводила до появи виражених деструктивних процесів у серці. На ЕКГ ці явища відображались у вигляді глибокого зубця Q або QS в I та/або avL відведеннях, що свідчило про формування у щурів даної групи передньо-бокового, переднього поширеного трансмурального некрозу міокарда (рис. 3, табл. 1). У частини тварин реєстрували аналогічні зміни і в II відведенні, що підтверджувало розвиток поширеного некрозу міокарда. Величина зубця Q у деяких тварин досягала –0,35 мВ, при цьому середні значення цього показника перебували на рівні –0,17 ± 0,04 мВ (табл. 1).

Cryo-exposure for 30 seconds led to pronounced destructive processes in the heart. These phenomena were reflected on the ECG as deep Q or QS waves in leads I and/or avL, indicating the formation of anterolateral, extensive anterior transmural myocardial necrosis in this group of rats (Fig. 3, Table 1). Similar changes were recorded in lead II in some animals, confirming the development of extensive myocardial necrosis. The Q wave amplitude in some animals reached –0.35 mV, with average values of –0.17 ± 0.04 mV (Table 1).

Таблиця 1. Електрокардіографічні показники (II відведення) щурів на 1-шу добу після моделювання некрозу міокарда
Table 1. Electrocardiographic Parameters (Lead II) of Rats on Day 1 After Myocardial Necrosis Modeling

Показник / Parameter	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
P, мВ / P, mV	0,03±0,005	–0,01±0,01	–0,01±0,01	0,01±0,005
P, мс / P, mV	25±0,5	22,5±2,4	27,3±4,2	25±2,1
Q, мВ / Q, mV	–	–0,17±0,04	–0,15±0,03	–0,12±0,02
Q, мс / Q, ms	–	17±3,5	16,2±4,3	12±5,5
R, мВ / R, mV	0,27±0,02	0,12±0,04	0,11±0,05	0,17±0,04
R, мс / R, ms	29±0,88	19,7±6,3	16,3±3,5	19±13,0
T, мВ / T, mV	0,10±0,02	–0,05±0,01	–0,1±0,04	0,04±0,02
T, мс / T, ms	48±1,7	51,1±3,8	55±2,3	48±12,0
P–R (P–Q), мс / P–R(P–Q), ms	39±2,1	49,8±2	48,6±0,8	47,3±2,4
QRS, мс / QRS, ms	30±0,7	34±3,1	31,3±0,9	33,5±1,5
QT, мс / QT, ms	77±1,5	93,3±4,1*	94,9±3,1*	82±10,0
QTc, мс / QTc, ms	201,8±4,2	232±6,7	207±5,4	223±21
R–R макс., мс / R–R max., ms	175±15,6	176±11	187±10,5	221±46
R–R мин., мс / R–R min., ms	123±13,4	133±14	117±18,6	114±4,5
R–R ср., мс / R–R avg., ms	148±6,0	161±8	168±6,5	134±7,5
ЧСС, скр./хв / HR, bpm	408±15	380±20	362±14	450±26
Кут α, ° / Angle α, °	47±5,5	15±17,5	17±3,2*	18±3,0*

Примітка: *статистично значимо, відносно групи норми, $p < 0,05$.
Note: *Statistically significant, compared to the control group, $p<0.05$

Зубець Т, який в нормі відображає процес швидкої кінцевої реполяризації міокарда шлуночків, після локальної кріодеструкції серця мав характерний загострений вид і був розташований нижче ізолінії (рис. 3). Такий негативний коронарний зубець Т свідчить про те, що ішемія локалізована в субепікардіальних відділах передньої стінки лівого шлуночка. Амплітуда зубця Т на 1-шу добу після кріовпливу на серце складала – 0,05 ±0,005 мВ (табл. 1).

У II відведенні амплітуда зубця R становила 0,12 ± 0,04 мВ, що більш ніж на 50% менше норми. На протилежній стінці лівого шлуночка реєстрували реципрокні зміни у вигляді появи зубця R і елевації зубця Т в avR відведенні (рис. 3).

Після кріовпливу на серце відбувається швидкий, поширений розвиток деструктивних процесів в серцевому м'язі, що відмічається на ЕКГ появою негативних зубців Q або QS не тільки в I та aVL відведеннях але і в II відведенні. Взагалі на 1-шу добу у тварин всіх експериментальних груп у 87% випадків відмічається наявність Q-позитивних некрозів міокарда (табл. 2).

The T wave, which normally reflects the process of rapid terminal repolarization of the ventricular myocardium, exhibited a characteristic sharp appearance and was located below the isoelectric line after local cryodestruction of the heart (Fig. 3). Such a negative coronary T wave indicates that the ischemia is localized in the subepicardial regions of the anterior wall of the left ventricle. The T wave amplitude on day 1 after cryo-exposure was –0.05 ± 0.005 mV (Table 1).

In Lead II, the R wave amplitude was 0.12 ± 0.04 mV, more than 50% lower than normal. Reciprocal changes were observed on the opposite wall of the left ventricle, indicated by the presence of an R wave and T wave elevation in lead avR (Fig. 3).

Cryoexposure to the heart causes rapid, widespread development of destructive processes in the cardiac muscle, evident on the ECG as the appearance of negative Q or QS waves not only in leads I and avL but also in lead II. Overall, on day 1, 87% of animals across all experimental groups showed the presence of Q-positive myocardial necrosis (Table 2).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 2. Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубців R і Q після моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 1-шу добу
Table 2. Magnitude (amplitude (mV)) and duration (ms) of R and Q waves after myocardial necrosis modeling in leads I and avL on day 1

Показник / Parameter	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
I відведення / I Lead				
R, мВ / R, mV	0,17±0,02	0,07±0,02	0,06±0,01	0,05±0,01
R, мс / R, ms	24,9±1,0	13,8±3,0*	17,3±3,3*	17,5±3,7*
Q, мВ / Q, mV	–	–0,09±0,01*	–0,08±0,03*	–0,08±0,01*
Q, мс / Q, ms	–	18,1±1,3*	20,4±3,1*	21,8±2,3*
avL відведення / avL Lead				
R, мВ / R, mV	0,05±0,01	0,01±0,01	0,02±0,01	0,05±0,01
R, мс / R, ms	13,2±3,4	10,0±3,1	11,0±3,4	9,4±3,2
Q, мВ / Q, mV	–	–0,10±0,01*	–0,07±0,03*	–0,07±0,01*
Q, мс / Q, ms	–	23,1±1,3*	20,7±3,1*	24,8±2,2*
n із зубцем Q/n заг n with Q wave/n total	0/10	13/15*	13/15*	12/15*

Примітка: *статистично значимо, відносно групи норми, $p < 0,05$.
Note: *statistically significant, compared to the control group, $p < 0.05$

Кріовплив з експозицією 30 с призводить до глибокого пошкодження тканин і формування зони деструкції, що відображається на ЕКГ у вигляді зубців Q. Тривалість інтервалу QT збільшувалася до 93,3 ± 4,1 мс, що майже на 20% більше, ніж у тварин групи норми. Зауважимо, що саме зміни величини інтервалу QT розглядаються як предиктор фатальних порушень ритму [16]. Кут α складав 15 ± 17,5º, що на 68% нижче, ніж у щурів групи норми, що вказувало на зміну електричної вісі серця за типом лівограми.

Таким чином, у щурів у групі контролю на 1-шу добу після кріовпливу на серце спостерігали електрокардіографічну картину, яка є характерною для трансмурального некрозу міокарда в передніх і передньобічних топографічних ділянках серця. Джерело ритму в більшості випадків було важко діагностувати, в окремих випадках це атріовентрикулярний вузол. Ішемічні і некротичні зміни в міокарді лівого шлуночка призводили до порушення процесів збудливості і провідності і, як наслідок, змінювалось положення електричної вісі серця за типом лівограми.

За даними ЕКГ введення в зону кріопошкодження альгінатного імплантата (група 2) не приводило до появи ускладнень функціонального стану міокарда, а показники достовірно значимо не відрізнялись від групи контролю. На електрокардіограмах щурів після введення альгінатного імплантата в зону кріоушкоджень міокарда лівого шлуночка на 1-шу добу реєстрували ознаки передньо-бічного і поширеного трансмурального некрозу міокарда, що підтверджувалося появою зубця Q або QS в I, II, avL і avF відведеннях.

У відведенні avR реєстрували реципрокні зміни, які вказували на глибину ушкодження після кріодеструкції серця. Амплітуда зубця Q в II відведенні становила – 0,15 ± 0,03 мВ тривалістю 16,2 ± 4,3 мс. Зубець R при цьому знижувався до 0,11 ± 0,05 мВ. На тлі цих змін змінювався кут α, який свідчить про положення електричної вісі серця. Його показник дорівнював 17 ± 3,2º (табл. 1).

Зубець P в ряді випадків не можна було визначити, в інших – він був негативним, що свідчило про ретроградне проведення електричного імпульсу через

Cryoexposure for 30 seconds leads to severe tissue damage and the formation of a destruction zone, which is reflected on the ECG by the appearance of Q waves. The QT interval duration increased to 93.3 ± 4.1 ms, nearly 20% longer than in the control group animals. Notably, changes in the QT interval duration are considered predictors of fatal arrhythmias [16]. The angle α was 15 ± 17.5º, 68% lower than in the control group rats, indicating a shift in the heart's electrical axis towards a left-axis deviation.

Thus, in the control group of rats, on day 1 after cryoexposure to the heart, the ECG exhibited a pattern characteristic of transmural myocardial necrosis in the anterior and anterolateral topographical regions of the heart. The source of rhythm was difficult to diagnose in most cases, with the atrioventricular node being identified in some instances. Ischemic and necrotic changes in the left ventricular myocardium led to disruptions in excitability and conductivity processes, resulting in a shift in the heart's electrical axis towards a left-axis deviation.

According to the ECG data, introducing an alginate implant into the cryoinjury zone (group 2) did not lead to complications in the myocardial functional state, with parameters not significantly different from the control group. The electrocardiograms of rats after the introduction of the alginate implant into the cryoinjury zone of the left ventricular myocardium on day 1 showed signs of anterolateral and widespread transmural myocardial necrosis, confirmed by the appearance of Q or QS waves in leads I, II, avL, and avF.

Reciprocal changes recorded in lead avR indicated the extent of damage following cryodestruction of the heart. The Q wave amplitude in lead II was –0.15 ± 0.03 mV with a duration of 16.2 ± 4.3 ms. The R wave decreased to 0.11 ± 0.05 mV. Against these changes, the angle α, indicating the position of the heart's electrical axis, was 17 ± 3.2º (Table 1).

In some cases, the P wave could not be determined, and in others, it was negative, indicating retrograde conduction of the electrical impulse through the heart. Similar to the post-cryoexposure group, ischemic

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

серце. Як і в групі після кріовпливу на серце про ішемічне ураження субепікардіальних відділів органа свідчив негативний зубець Т в I, II, avL і avF відведеннях. Достовірних відмінностей від групи контролю в електрокардіографічних показниках щурів групи 2 виявлено не було.

Таким чином, у щурів групи після введення альгінатного імплантата в зону кріодеструкції серця на 1-шу добу спостереження виявлено ознаки передньобічного і поширеного трансмурального некрозу міокарда. Альгінатний імплантат, розташований в зоні кріодеструкції ніяким чином не викликав додаткових патологічних ускладнень на тлі кріодеструкції.

Як і в попередніх групах, в групі 3 (НМ+АГІ+ЕСцП) кріовплив на серце призводив до формування трансмурального передньо-бічного некрозу міокарда, що підтверджувалося появою зубця Q в I, II і avL відведенні (рис. 4, табл. 1, 2).

damage to the subepicardial sections of the heart was indicated by a negative T wave in leads I, II, avL, and avF. No significant differences in electrocardiographic parameters were found between the group 2 rats and the control group.

Thus, in rats, following the introduction of an alginate implant into the cryodestruction zone of the heart on day 1, signs of anterolateral and widespread transmural myocardial necrosis were observed. The alginate implant in the cryodestruction zone did not cause additional pathological complications against the background of cryodestruction.

As in the previous groups, in group 3 (MN+AGI+PCHE), cryoexposure to the heart led to the formation of transmural anterolateral myocardial necrosis, confirmed by the appearance of a Q wave in leads I, II, and avL (Fig. 4, Tables 1, 2).

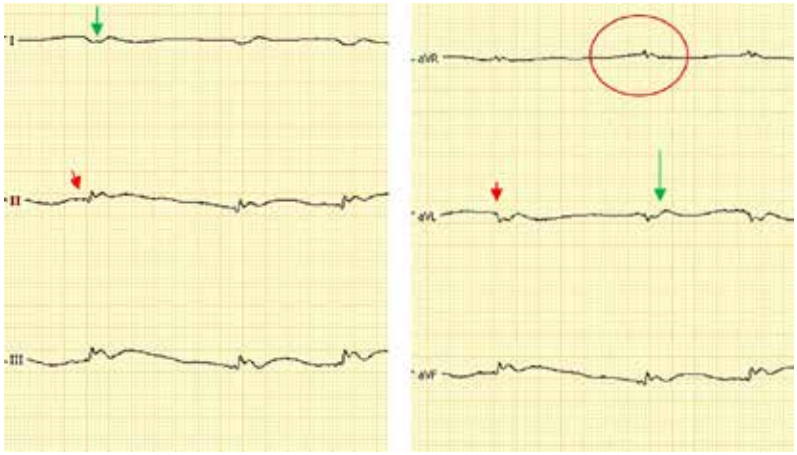


Рис. 4. Електрокардіограма щура після 30 с кріовпливу на серце і введення альгінатного імплантата з ЕСцП, 1-ша доба:
червона стрілка – позначення зубця Q; червоний овал – реципрокні зміни в avR відведенні;
зелена стрілка – елевація сегмента ST

Fig. 4. Electrocardiogram of a rat 1 day after 30 s of cryoexposure to the heart and insertion of an alginate implant with PCHE:
the red arrow indicates the Q wave; the red oval highlights reciprocal changes in lead avR;
the green arrow indicates ST segment elevation

Введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП в зону кріоушкодження міокарда сприяло збереженню джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла, що відображалось у наявності позитивного зубця Р з амплітудою на рівні 0,01 ± 0,005 мВ і тривалістю 25 ± 2,1 мс.

Амплітуда зубця R знижувалася до 0,17 ± 0,04 мВ, а його тривалість складала 19 ± 13 мс (рис. 4, табл. 1, 2). Підняття сегмента ST зафіксовано на рівні 0,04 ± 0,02 мВ, що підтверджувало розвиток ішемічного пошкодження навколо і в зоні кріовпливу на серце. Тривалість інтервалу QT складав 82 ± 10,0 мс, при середній тривалості R – R інтервалу 134 ± 7,5 мс, при цьому ЧСС дорівнювала 450 ± 26 скорочень/хв.

Розвиток трансмурального некрозу міокарда підтверджували зареєстровані реципрокні зміни у відведенні avR, в якому амплітуда зубця R дорівнювала 0,12 мВ. Кут α дорівнював 18 ± 3,0º, що свідчило про поворот електричної осі вліво. Кількість тварин з Q-позитивним некрозом міокарда відмічалось на рівні 80%.

Таким чином, у щурів в групі після кріодеструкції серця і введенням альгінатного імплантата з ЕСцП на 1-шу добу спостереження також відзначали ознаки

Insertion of an alginate implant saturated with PCHE into the myocardial cryoinjury zone helped maintain the source of myocardial excitation at the sinoatrial node level, reflected in the presence of a positive P wave with an amplitude of 0.01 ± 0.005 mV and a duration of 25 ± 2.1 ms.

The R wave amplitude decreased to 0.17 ± 0.04 mV, with a duration of 19 ± 13 ms (Fig. 4, Tables 1, 2). ST segment elevation was recorded at 0.04 ± 0.02 mV, confirming the development of ischemic damage around and within the cryoexposure zone. The QT interval duration was 82 ± 10.0 ms, with an average R-R interval duration of 134 ± 7.5 ms, and the heart rate was 450 ± 26 beats per minute.

The development of transmural myocardial necrosis was confirmed by reciprocal changes recorded in lead avR, where the R wave amplitude was 0.12 mV. The angle α was 18 ± 3.0º, indicating a leftward shift of the electrical axis. The proportion of animals with Q-positive myocardial necrosis was approximately 80%.

Thus, in the group of rats after heart cryodestruction and the introduction of an alginate implant with PCHE, signs of transmural myocardial necrosis were observed

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

трансмурального некрозу міокарда. Достовірно значущих відмінностей між групами не було відмічено.

Електрокардіографічні показники щурів в дослідних групах на 7-му добу після кріокардіодеструкції

На 7-му добу після проведення кріодеструкції серця в контрольній групі на електрокардіограмі зберігалися ознаки передньо-бічного трансмурального некрозу міокарда, про що свідчила наявність зубця Q в I і в avL відведенні (рис. 5).

on day 1 of observation. No significant differences were noted between the groups.

Electrocardiographic indicators of rats in the experimental groups on day 7 after cryocardiodestruction

On day 7 after heart cryodestruction in the control group, the electrocardiogram still showed signs of anterolateral transmural myocardial necrosis, indicated by the presence of a Q wave in leads I and avL (Fig. 5).

Рис. 5. Електрокардіограма щура після 30 с кріодеструкції серця, 7-ма доба:
чорна стрілка – зубець P; червона стрілка – депресія сегмента ST; зелена стрілка – зубець T
Fig. 5. Electrocardiogram of a rat 7 days after 30 s of heart cryodestruction:
the black arrow indicates the P wave; the red arrow indicates ST segment depression; the green arrow indicates the T wave

У більшості випадків до цього терміну спостереження реєстрували зубець P вище ізолінії перед кожним комплексом QRS. Ці показники свідчили про відновлення джерела ритму. Ритм ставав синусовим, правильним.

Амплітуда зубця Q в II відведенні досягала –0,12 ± 0,08 мВ, тривалість – до 24 ± 3,5 мс (табл. 3). В I і avL відведенні амплітуда зубця Q досягала –0,14 ±0,05 мВ, тривалість – до 22 ± 3,5 мс (табл. 4). Це свідчило про продовження і поширення асептичної запальної реакції в серцевому м'язі після кріодеструкції серця.

Величина зубця R у контролі була знижена до 0,13 ± 0,05 мВ, тобто удвічі відносно групи норми, тривалість – в 1,5 рази, до 20 ± 1,1 мс, що є свідченням низької скоротливої функції міокарда. Навколо зони кріодеструкції в епікардіальних шарах зберігалися явища гіпоксії та порушення процесів метаболізму. Це підтверджувалось тим, що в I і в avL відведеннях реєстрували негативний зубець T до – 0,08 ± 0,01мВ. В II відведенні його амплітуда досягала 0,05 ± 0,01мВ, що удвічі нижче за норму.

Тривалість інтервалу QT була на рівні 85 ± 0,7мс, що на 10% вище за норму. Відомо, що будь-який ґенез подовження інтервалу QT (вроджений чи набутий) є рівною мірою небезпечним як фактор ризику розвитку злоякісних шлуночкових аритмій та фібриляції шлуночків [16]. Як видно, ризик виникнення в цій групі шлуночкових аритмій залишався. Електрична вісь серця зміщена вліво, кут α становив 11 ± 4,7º.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця на 7-му добу спостереження відзначали подальше поширення процесу пошкодження серцевої тканини, що підтверджувалося великою глибиною зубця Q і вираженим зміщенням електричної вісі серця.

In most cases by this observation period, the P wave was recorded above the isoelectric line before each QRS complex. These indicators suggested the restoration of the rhythm source. The rhythm became sinus and regular.

The amplitude of the Q wave in lead II reached –0.12 ± 0.08 mV, with a duration of up to 24 ± 3.5 ms (Table 3). In leads I and avL, the Q wave amplitude reached –0.14 ± 0.05 mV, with a duration of up to 22 ± 3.5 ms (Table 4). This indicated the continuation and spread of the aseptic inflammatory reaction in the cardiac muscle after heart cryodestruction.

The R wave amplitude in the control was reduced to 0.13 ± 0.05 mV, which is half of that in the normal group, and its duration was 1.5 times longer, up to 20 ± 1.1 ms, indicating low myocardial contractility. Around the cryodestruction zone in the epicardial layers, hypoxia and metabolic disturbances persisted. This was confirmed by the recording of a negative T wave in leads I and avL, reaching –0.08 ± 0.01 mV. In lead II, its amplitude was 0.05 ± 0.01 mV, which is half of the normal value.

The QT interval duration was 85 ± 0.7 ms, which is 10% higher than normal. It is known that any genesis of QT interval prolongation (congenital or acquired) is equally dangerous as a risk factor for developing malignant ventricular arrhythmias and ventricular fibrillation [16]. Therefore, the risk of ventricular arrhythmias in this group remained. The heart's electrical axis was shifted to the left, with an angle α of 11 ± 4.7º.

Thus, in the group of rats after heart cryodestruction, on the 7th day of observation, there was a further spread of heart tissue damage, confirmed by the significant depth of the Q wave and a marked shift of the heart's electrical axis.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 3. Електрокардіографічні показники (II відведення) щурів на 7-му добу після моделювання некрозу міокарда
Table 3. Electrocardiographic indicators (lead II) of rats on day 7 after myocardial necrosis modeling

Показник / Indicators	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
P, мВ / P, mV	0,03±0,005	0,01±0,005	0,01±0,005	0,03±0,01
P, мс / P, ms	25±0,5	27±1,2	19,7±4,9	27±1,5
Q, мВ / Q, mV	–	–0,12±0,08*	–	–
Q, мс / Q, ms	–	24±3,5*	–	–
R, мВ / R, mV	0,27±0,02	0,13±0,05*	0,15±0,04*	0,23±0,02
R, мс / R, ms	29±0,88	20±1,1*	23,5±3,3	28±2,0**
T, мВ / T, mV	0,10±0,02	0,05±0,01	0,08±0,02	0,08±0,01
T, мс / T, ms	48±1,7	52±3,4	45,3±1,9	44,3±0,8
P-R(P-Q), мс / P-R(P-Q), ms	39±2,1	53,6±2,6	47,2±1,9	48,5±2,0
QRS, мс / QRS, ms	30±0,7	34±2,3	31,9±0,5	33±1,0
QT, мс / QT, ms	77±1,5	85±0,7	83±3,4	75±2,5
QTc, мс / QTc, ms	201,8±4,2	210±10	211±8,4	205±2,9
R-R макс., мс / R-R max., ms	175±15,6	183±16,7	169±7,1	153±0,8
R-R мин., мс /R-R min., ms	123±13,4	16,7±3,5	95,8±18,7	129±5,7
R-R ср., мс / R-R avg., ms	148±6,0	165±13	154±5,8	140±2,6
ЧСС, скр./хв /HR, beats/min	408±15	367±31,2	392±14	418±7,8
Кут α, ° / Angle α, °	47±5,5	11±4,7	22,5±15,9	28,3±3,8

Примітки:
*статистично значимо відносно групи норми, p < 0,05;
**статистично значимо відносно групи контролю, p < 0,05.

Notes:
*statistically significant compared to the normal group, p < 0.05;
**statistically significant compared to the control group, p < 0.05.

У групі 2 на 7-му добу після проведення кріодеструкції серця і введення альгінатного імплантата на електрокардіограмі відзначали незначну позитивну динаміку змін величини і форми шлуночкового комплексу QRS по відношенню до контрольної групи того ж терміну спостереження (табл. 3, 4). Амплітуда зубця R у II відведенні збільшувалася до 0,15 ± 0,04 мВ, а тривалість складала 23,5 ± 3,3 мс. Зменшувалася удвічі амплітуда негативного зубця Q.

In group 2 on day 7 after myocardial cryodestruction and introduction of alginate implant, a slight positive trend in changes in the magnitude and shape of the QRS complex was observed on the electrocardiogram compared to the control group at the same observation period (Table 3, 4). The amplitude of the R wave in lead II increased to 0.15 ± 0.04 mV, with a duration of 23.5 ± 3.3 ms. The amplitude of the negative Q wave decreased by half.

Таблиця 4. Характеристики (амплітуда і тривалість) зубців R і Q в I і avL відведеннях у щурів дослідних груп на 7-му добу після моделювання некрозу міокарда
Table 4. Characteristics (amplitude and duration) of R and Q waves in leads I and avL in experimental group rats on day 7 after myocardial necrosis modeling

Показник / Parameter	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
I відведення / I Lead				
R, мВ / R, mV	0,17±0,02	0,12±0,04	0,14±0,03	0,15±0,04
R, мс / R, ms	24,9±1,0	16,8±3,0*	16,3±1,2*	22,5±2,5**
Q, мВ / Q, mV	–	–0,14±0,01*	–0,07±0,03*	–0,03±0,02*,**
Q, мс / Q, ms	–	23,0±2,6	22,7±2,1	20,7±1,4
avL відведення / avL Lead				
R, мВ / R, mV	0,05±0,01	0,01±0,03	0,02±0,01	0,05±0,01
R, мс / R, ms	13,2±3,4	14,0±4,2	12,0±2,7	9,4±3,2
Q, мВ / Q, mV	–	–0,11±0,01*	–0,06±0,03*	–0,03±0,02*,**
Q, мс / Q, ms	–	20,0±3,5*	20,7±32	17,9±2,7
n с зубцем Q / n заг n with Q wave / n total	0/10	13/15*	12/15*	8/15*

Примітки:
*статистично значимо відносно групи норми, p < 0,05;
**статистично значимо відносно групи контролю, p < 0,05.

Notes:
*statistically significant compared to the normal group, p < 0.05;
**statistically significant compared to the control group, p < 0.05.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

У більшості випадків у формуванні збудження нервового імпульсу брав участь синоатріальний вузол, про що свідчила наявність позитивного зубця P, який дорівнював 0,01±0,005 мВ і мав тривалість 19,7±4,9 мс. Тобто ритм спостерігали синусовий, правильний.

На ЕКГ до цього терміну спостереження зубець Q був присутній у 12 з 15 тварин (80%), що було майже на рівні контрольної групи (табл. 4). На триваюче ішемічне пошкодження вказувала депресія сегмента ST в I і avL відведеннях. Тривалість інтервалу QT знижувалася, проте достовірної різниці цього показника як від контролю, так і від групи норми, не спостерігали (див. табл. 3). Електрична вісь серця незначно відновлювалася. Кут α дорівнював + 22,5 ± 15,9º, проте достовірно не відрізнявся від контрольної групи.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця і введення альгінатного імплантата на 7-му добу спостереження відзначали явища ішемічного пошкодження і некрозу міокарда серцевої стінки на рівні групи контролю.

У групі 3 на 7-му добу спостережень використання альгінатного імплантата в поєднанні з екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят сприяло якнайшвидшому відновленню величини і форми комплексу QRST (рис. 6, табл. 3, 4).

In most cases, sinoatrial node participated in the formation of excitation of the nervous impulse, as evidenced by the presence of a positive P wave, which was 0.01 ± 0.005 mV and lasted 19.7 ± 4.9 ms. Thus, the rhythm was observed as sinus, regular.

Up to this observation period, the Q wave was present in 12 out of 15 animals (80%), which was almost at the level of the control group (Table 4). Depression of the ST segment in leads I and avL indicated ongoing ischemic damage. The duration of the QT interval decreased, but there was no significant difference in this indicator from either the control or normal groups (Table 3). The electrical axis of the heart was slightly restored. The angle α was +22.5 ± 15.9º, but did not significantly differ from the control group.

Thus, in rats in group 2 on day 7 after myocardial cryodestruction and introduction of alginate implant, signs of ischemic damage and myocardial wall necrosis were observed at the level of the control group.

In group 3, on day 7 of observation, the use of alginate implant in combination with the extract of cryopreserved heart fragments in piglets contributed to the fastest restoration of the magnitude and shape of the QRST complex (Figure 6, Table 3, 4).

Рис. 6. Електрокардіограма щура після 30 с кріодеструкції серця із введенням альгінатного імплантата з ЕСцП, 7-ма доба: довгі (чорні) стрілки – зубець P; середні (червоні) стрілки – зубець R; короткі (зелені) стрілки – зубець T
Fig. 6. Electrocardiogram of a rat after 30 seconds of myocardial cryodestruction with the introduction of an alginate implant with ESCT, day 7: long (black) arrows – P wave; medium (red) arrows – R wave; short (green) arrows – T wave

На 7-му добу в II відведенні реєстрували позитивний зубець P перед кожним комплексом QRS з амплітудою і тривалістю на рівні норми. Ритм, відповідно, був синусовий, правильний.

У 46% піддослідних тварин групи 3 відмічали відновлення електричної провідності і скоротливої функції міокарда. В I і avL відведенні реєстрували високий зубець R. В II відведенні його величина становила 0,23 ± 0,02 мВ, що на 43% було вище, ніж в контрольній групи, значимо відрізнялося від інших експериментальних груп і максимально наближувалося до групи норми. Контури комплексу QRS відповідали нормі. Сегмент ST переходив ізолінію і формував позитивний зубець T, величина якого досягала 0,08 ± 0,01 мВ, що на 37% вище, ніж у щурів контрольної групи. У відведенні avR реєстрували глибокий зубець QS, який в цьому відведенні притаманний нормі.

On day 7, lead II recorded a positive P wave before each QRS complex with amplitudes and durations within normal range. Accordingly, the rhythm was sinus, regular.

In 46% of the experimental group 3 animals, there was noted restoration of electrical conductivity and myocardial contractile function. In leads I and avL, a high R wave was recorded. In lead II, its magnitude was 0.23 ± 0.02 mV, which was 43% higher than in the control group, significantly different from other experimental groups, and approached the norm group. The contours of the QRS complex were normal. The ST segment crossed the isoelectric line and formed a positive T wave, the magnitude of which reached 0.08 ± 0.01 mV, which was 37% higher than in the control group rats. Lead avR recorded a deep QS wave, which is characteristic of this lead in the norm.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Електрична систола шлуночків (інтервал QT) становила 75 ± 2,5 мс, що відповідало нормі. Кут α незначно зростав, проте був майже на 40% нижче за норму і становив 28,3 ± 3,8º.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця і введенням альгінатного імплантата з ЕСцП на 7-му добу експерименту спостерігали зміни в електрокардіографічній картині, які свідчать про часткове відновлення серцевого м'яза.

The electrical systole of the ventricles (QT interval) was 75 ± 2.5 ms, which corresponded to the norm. The angle α slightly increased, but was almost 40% lower than the norm and was 28.3 ± 3.8º.

Thus, in rats in the group after myocardial cryodestruction and the introduction of an alginate implant with ESCT on day 7 of the experiment, changes in the electrocardiographic picture were observed, indicating partial restoration of myocardial tissue.

Електрокардіографічні показники щурів на 14-ту добу після кріокардіодеструкції

На 14-ту добу після кріодеструкції на ЕКГ у щурів контрольної групи зберігалися патологічні зміни, що свідчать про передньо-бічний трансмуральний некроз міокарда з глибоким зубцем Q у I і avL відведенні до –0,12 ± 0,03 мВ (табл. 5).

Electrocardiographic indicators of rats on day 14 after cryocardiodestruction

On day 14 after cryodestruction, in the ECG of rats in the control group, pathological changes indicating anterior-lateral transmural myocardial necrosis with a deep Q wave in leads I and avL persisted at –0.12 ± 0.03 mV (Table 5).

Таблиця 5. Електрокардіографічні показники (II відведення) щурів на 14-ту добу після моделювання некрозу міокарда
Table 5. Electrocardiographic indicators (lead II) of rats on day 14 after modeling myocardial necrosis

Показник / Indicators	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
P, мВ / P, mV	0,03±0,005	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01
P, мс / P, ms	25±0,5	22,2±5,1	32,2±2,9	28±2,0
Q, мВ / Q, mV	–	–0,04±0,03	–0,01±0,01	–
Q, мс / Q, ms	–	10±5,6	11±3,7	–
R, мВ / R, mV	0,27±0,02	0,15±0,03	0,15±0,05	0,24±0,02**
R, мс / R, ms	29±0,88	22,1±3,5	23±5,7	27,6±6,3
T, мВ / T, mV	0,10±0,02	0,05±0,02	0,05±0,02	0,10±0,03
T, мс / T, ms	48±1,7	43,6±1,5	48,4±3,5	54±4,0
P-R(P-Q), мс / P-R(P-Q), ms	39±2,1	47,7±0,9	46,7±1,4	54±3,6
QRS, мс / QRS, ms	30±0,7	32,8±0,9	32±1,0	33±1,5
QT, мс / QT, ms	77±1,5	87±7,2*	84±5,8	76,1±1,2**
QTc, мс / QTc, ms	201,8±4,2	213±11,8	181±5,6	207,3±5,8
R-R макс., мс / R-R max., ms	175±15,6	318±146	303±47,2	150,1±4,8
R-R мин., мс /R-R min., ms	123±13,4	102±29,9	146±28,8	110±19,4
R-R ср., мс / R-R avg., ms	148±6,0	168±14,8	180±35,5	135±5,3**
ЧСС, скр./хв /HR, beats/min	408±15	361,6±29,5	367±40,6	445±16,9
Кут α, º / Angle α, º	47±5,5	13,7±2,3	16,7±3,7	27,6±0,5*

Примітки:
*статистично значимо, відносно групи норми, p < 0,05;
**статистично значимо, відносно групи контролю, p < 0,05.

Notes:
*statistically significant compared to the normal group, p < 0.05;
**statistically significant compared to the control group, p < 0.05.

Величина зубця R в II відведенні становила 0,15 ± 0,03мВ, що в 2 рази нижче рівня норми. В I і avL відведенні цей показник був на рівні 0,05 ± 0,02 мВ (табл. 5). Амплітуда зубця T також була удвічі менше за норму. Кількість тварин, у яких зберігався Q-зубець складала 67%.

За нашими попередніми даними морфологічного дослідження серця після локальної кріодеструкції, на 14-ту добу спостереження в міокарді сходять нанівець ознаки запальної реакції, а на перший план з'являються ознаки сполучно-тканинної проліферації. Це свідчить про те, що зона некрозу відокремлена від інтактних тканин, а в паранекротичній ділянці явища ішемічного пошкодження і ішемії знижуються.

The magnitude of the R wave in lead II was 0.15 ± 0.03 mV, which was half the normal level. In leads I and avL, this indicator was 0.05 ± 0.02 mV (Table 5). The amplitude of the T wave was also half the normal level. The percentage of animals with a preserved Q wave was 67%.

According to our previous morphological study of the heart after local cryodestruction, by day 14 of observation, the myocardium exhibited signs of inflammatory reaction subsiding, with prominent features of connective tissue proliferation coming to the forefront. This indicates that the necrotic zone is separated from intact tissues, and in the perinecrotic area, ischemic damage and ischemia phenomena decrease. Con-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Разом з тим, на ЕКГ в I і avL відведеннях відмічали депресію сегмента ST і негативний зубець Т.

Тривалість інтервалу QT була вище за норму і становила 87 ± 7,2 мс, що свідчило про готовність до шлуночкових тахікардій, але появу самих тахікардій не відмічали. Показник кута α достовірно не відрізнявся від такого на 7-му добу (табл. 6).

currently, in the ECG in I and avL leads, ST segment depression and negative T wave were noted.

The QT interval duration was above normal at 87 ± 7.2 ms, indicating readiness for ventricular tachycardia, although the tachycardia itself was not observed. The α angle did not significantly differ from that on day 7 (Table 6).

Таблиця 6. Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R після моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 14-ту добу
Table 6. Amplitude (mV) and duration (ms) of R wave after myocardial infarction modeling in I and avL leads on day 14

Показник / Parameter	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
I відведення / I Lead				
R, мВ / R, mV	0,17±0,02	0,05±0,02	0,07±0,03	0,15±0,04
R, мс / R, ms	24,9±1,0	16,8±3,0*	16,3±1,2*	22,5±2,5**
Q, мВ / Q, mV	–	–0,12±0,01*	–0,07±0,03*	–0,02±0,01*
Q, мс / Q, ms	–	22,0±2,6	22,7±2,1	11,2±1,4
avL відведення / avL Lead				
R, мВ / R, mV	0,05±0,01	0,04±0,02	0,03±0,01	0,05±0,01
R, мс / R, ms	13,2±3,4	10,0±2,3	12,5±1,9	17,1±2,3
Q, мВ / Q, mV	–	–0,12±0,03*	–0,06±0,03*	–0,02±0,01*
Q, мс / Q, ms	–	23,0±2,5*	20,7±32	11,2±2,2
n с зубцем Q/n заг n with Q wave / n total	0/10	10/15*	10/15*	5/15**

Примітки:
*статистично значимо, відносно групи норми, p < 0,05;
**статистично значимо, відносно групи контролю, p < 0,05.

Notes:
* statistically significant compared to the norm group, p < 0.05;
** statistically significant compared to the control group, p < 0.05.

Таким чином, у щурів після кріодеструкції серця протягом 14-ти діб зберігалися ознаки трансмурального некрозу міокарда з незначним відновленням скоротливої функції міокарда.

На 14-ту добу після проведення кріодеструкції серця і введення альгінатного імплантата (група 2) електрокардіографічні показники достовірно значимо не відрізнялися від показників контрольної групи цього строку спостереження.

Перед кожним комплексом QRS реєстрували позитивний зубець Р, у щурів даної групи ритм був синусовий, правильний. Величина зубця R в II відведенні досягала 0,15 ± 0,05 мВ, тривалість – 23 ± 5,7 мс (табл. 5). Відмінною особливістю була наявність глибокого зубця S і депресія сегмента ST, що свідчило про триваюче ішемічне пошкодження. Глибокий зубець Т в I і avL відведенні підтверджував наявність субепікардіальної ішемії міокарда передніх передньобічних поверхонь серця. Тривалість інтервалу QT становила 84 ± 5,8 мс, що достовірно вище за норму.

Таким чином, до цього терміну спостереження в групі 2 після кріокардіодеструкції та введення альгінатного імплантата зберігалися ознаки трансмурального некрозу міокарда, і електрокардіографічна картина достовірно значимо не відрізнялася від контрольної групи.

У групі з використанням альгінатного імплантата в поєднанні з ЕСцП (група 3) на 14-ту добу після кріокардіодеструкції виявлено позитивний вплив пептидних комплексів на формування комплексу QRST (табл. 5, 6).

Thus, in rats after myocardial cryodestruction over 14 days, signs of transmural myocardial infarction persisted with slight restoration of myocardial contractile function.

On day 14 after myocardial cryodestruction and alginate implantation (Group 2), electrocardiographic indicators did not significantly differ from those of the control group during this observation period.

A positive P wave was recorded before each QRS complex, with sinus rhythm being regular in rats in this group. The R wave amplitude in lead II reached 0.15 ± 0.05 mV, with a duration of 23 ± 5.7 ms (Table 5). A notable feature was the presence of a deep S wave and ST segment depression, indicating ongoing ischemic damage. The deep T wave in I and avL leads confirmed the presence of subepicardial ischemia of the anterior and anterolateral surfaces of the heart. The QT interval duration was 84 ± 5.8 ms, significantly higher than normal.

Thus, up to this observation period in Group 2 after cryocardiodestruction and alginate implantation, signs of transmural myocardial infarction persisted, and the electrocardiographic picture did not significantly differ from the control group.

In the group using alginate implants in combination with ESC-P (Group 3), a positive effect of peptide complexes on the formation of the QRST complex was observed on day 14 after cryocardiodestruction (Table 5, 6).

Sinus rhythm was recorded on the ECG. The P wave was within normal limits: amplitude 0.03 ± 0.01 mV,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

На ЕКГ реєстрували синусовий правильний ритм. Зубець Р був на рівні показників норми: амплітуда 0,03 ± 0,01 мВ, тривалість 28 ± 2,0 мс. Амплітуда зубця R в II відведенні була на рівні норми і досягала 0,24 ± 0,04 мВ, що вище контрольної групи на 60%, а також в порівнянні з іншими експериментальними групами. Збільшення амплітуди зубця R свідчило про відновлення провідної і скорочувальної функції міокарда лівого шлуночка. Показники реполяризації міокарда також наближалися до рівня норми, про що свідчила величина зубця Т (табл. 5). У деяких випадках в I та avL відведеннях залишався негативний зубець Т, що свідчило про ішемію відповідних відділів серця. Тривалість інтервалу QT була на рівні норми (76,1 ± 1,2 мс) (табл. 5). Кут α на цей термін найбільш максимально з усіх груп наближався до показника норми (27,6 ± 0,5) (табл. 5). Кількість тварин в цій групі, у яких було зареєстровано негативний зубець Q, була мінімальною і складала 33%.

Таким чином, на 14-ту добу в групі поєднаного використання альгінатного імплантата і введення ЕСцП на електрокардіограмі виявлені показники, які найбільш наближені до рівня норми. Низька амплітуда зубця Q в I та aVL відведеннях і висока амплітуда зубця R свідчили про активні репаративні процеси, що відбуваються в міокарді на тлі введення екстрактів серця поросят.

Електрокардіографічні показники щурів на 30-ту добу після кріокардіодеструкції

У контрольній групі тварин після кріодеструкції серця на 30-ту добу повного відновлення електрокардіографічної картини не спостерігалося. У третини експериментальних тварин зберігалися ознаки передньо-бічного трансмурального некрозу міокарда (табл. 7, 8).

Величина зубця Р перебувала на рівні 0,02±0,01 мВ. Ритм синусовий, правильний. В I і avL відведенні амплітуда зубця Q зберігалася в межах –0,04±0,01 мВ, тривалість зубця –10 мс (табл. 7). За результатами попереднього морфологічного аналізу на цей строк спостереження в стінці лівого шлуночка серця відбуваються процеси дозрівання сполучно-тканинного рубця, тобто продовження ремоделювання стінки лівого шлуночка. За даними електрокардіографії це підтверджується наявністю ознак, характерних для підгострої і рубцевої стадії інфаркту міокарда [4].

Амплітуда зубця R в II відведенні досягала 0,19 ± 0,07 мВ, при тривалості 19,7 ± 6,3 мс (табл. 7). Амплітуда зубця Т у II відведенні залишалася низькою і була на рівні 0,05 ± 0,02 мВ, що на 50% нижче за показник норми. Слід зазначити, що в I і avL відведенні зубець Т був негативним, що свідчило про триваючі процеси ішемії міокарда в відповідних топографічних ділянках лівого шлуночка. Однак тривалість інтервалу QT наближалася до значення норми і дорівнювала 76 ± 2,3 мс. (табл. 7). Електрична вісь серця була повернутою вліво, кут α склав 17º, що на 63% менше від норми.

Таким чином, на 30-ту добу експерименту в групі контролю зберігалися ознаки перенесеного некрозу міокарда з переходом його в підгостру стадію зі збереженням у 1/3 тварин в I і avL відведеннях зубця Q на рівні –0,04 ± 0,01 мВ.

duration 28 ± 2.0 ms. The R wave amplitude in lead II was within normal limits and reached 0.24 ± 0.04 mV, which was 60% higher than the control group and other experimental groups. The increase in R wave amplitude indicated restoration of the conduction and contractile function of the left ventricle myocardium. Repolarization indicators of the myocardium also approached normal levels, as indicated by the amplitude of the T wave (Table 5). In some cases, negative T wave remained in I and avL leads, indicating ischemia in the respective regions of the heart. The QT interval duration was within normal limits (76.1±1.2 ms) (Table 5). The α angle was the closest to normal from all groups observed (27.6 ± 0.5) (Table 5). The number of animals in this group with a recorded negative Q wave was minimal, at 33%.

Thus, on day 14 in the group using combined alginate implantation and ESC-P injection after cryocardiodestruction, ECG indicators were closest to normal levels. The low amplitude of the Q wave in I and avL leads and the high amplitude of the R wave indicated active reparative processes occurring in the myocardium against the background of porcine heart extracts.

Electrocardiographic indicators in rats on day 30 after cryocardiodestruction

In the control group of animals after cryocardiodestruction on day 30, complete restoration of the electrocardiographic picture was not observed. Signs of anterolateral transmural myocardial infarction persisted in a third of the experimental animals (Tables 7, 8).

The P wave amplitude remained at 0.02 ± 0.01 mV. The rhythm was sinus and regular. In I and avL leads, the Q wave amplitude remained within –0.04 ± 0.01 mV, with a duration of 10 ms (Table 7). According to the results of the previous morphological analysis at this observation period, processes of maturation of the connective tissue scar were observed in the left ventricular wall. According to the electrocardiography data, this is confirmed by the presence of signs characteristic of the subacute and scar stages of myocardial infarction [4].

The R wave amplitude in lead II reached 0.19 ± 0.07 mV, with a duration of 19.7 ± 6.3 ms (Table 7). The amplitude of the T wave in lead II remained low, at 0.05 ± 0.02 mV, which is 50% lower than the normal value. It is worth noting that in I and avL leads, the T wave was negative, indicating ongoing myocardial ischemia in the corresponding topographic areas of the left ventricle. However, the QT interval duration approached the normal value and equaled 76 ± 2.3 ms (Table 7). The electrical axis of the heart was leftward, with an α angle of 17º, which was 63% lower than normal.

Thus, on day 30 of the experiment, the control group exhibited signs of previous myocardial necrosis transitioning to the subacute stage, with 1/3 of animals showing Q wave in I and avL leads at –0.04 ± 0.01 mV.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 7. Електрокардіографічні показники (II відведення) щурів на 30-ту добу після моделювання некрозу міокарда
Table 7. Electrocardiographic parameters (Lead II) of rats on day 30 after myocardial necrosis modeling

Показник / Indicators	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
P, мВ / P, mV	0,03±0,005	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01
P, мс / P, ms	25±0,5	24,3±3,2	26,5±2,2	26±1,7
Q, мВ / Q, mV	–	–0,04±0,01	–0,01±0,01	–
Q, мс / Q, ms	–	10±2,3	12±3,5	–
R, мВ / R, mV	0,27±0,02	0,19±0,07	0,21±0,06	0,26±0,04
R, мс / R, ms	29±0,88	19,7±6,3	17±6,3	26±5,2
T, мВ / T, mV	0,10±0,02	0,05±0,02	0,03±0,01	0,09±0,03
T, мс / T, ms	48±1,7	44±2,0	48,2±2,7	51,6±2,3
P-R(P-Q), мс / P-R(P-Q), ms	39±2,1	48±0,4	48±4,8	43,3±3,0
QRS, мс / QRS, ms	30±0,7	31,3±0,3	29±2,1	30±0,7
QT, мс / QT, ms	77±1,5	76±2,3	74,7±5,1	77±3,9
QTc, мс / QTc, ms	201,8±4,2	190±2,9	194±11,8	209±10,3
R-R макс., мс / R-R max., ms	175±15,6	201±29,4	160±12,3	181±17,9
R-R мин., мс /R-R min., ms	123±13,4	135±3,0	123±25,3	103±17,2
R-R ср., мс / R-R avg., ms	148±6,0	159±6,2	149±11,6	150±5,3
ЧСС, скр./хв /HR, beats/min	408±15	377±14,2	408±31,3	399±13,6
Кут α, º / Angle α, º	47±5,5	17±0,1	34±0,7	48,4±1,6

Примітки:
*статистично значимо, відносно групи норми, p < 0,05;
**статистично значимо, відносно групи контролю, p < 0,05.

Notes:
*statistically significant compared to the normal group, p < 0.05;
**statistically significant compared to the control group, p < 0.05.

Таблиця 8. Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R і Q після моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 30-ту добу
Table 8. Amplitude (mV) and duration (ms) of R and Q waves after myocardial necrosis modeling in I and avL leads on day 30

Показник / Indicators	Норма / Normal	НМ / NM	НМ+АГІ / NM+AGI	НМ +АГІ+ЕСцП / NM+AGI+ ECHF
I відведення / I Lead				
R, мВ / R, mV	0,17±0,02	0,05±0,02	0,07±0,03	0,15±0,04
R, мс / R, ms	24,9±1,0	16,8±3,0*	16,3±1,2*	22,5±2,5**
Q, мВ / Q, mV	–	–0,04±0,01*	–0,04±0,02*	
Q, мс / Q, ms	–	22,0±2,6	22,7±1,9	
avL відведення / avL Lead				
R, мВ / R, mV	0,05±0,01	0,09±0,05	0,10±0,01	0,05±0,01
R, мс / R, ms	13,2±3,4	14,0±2,7	16,5±2,9	17,1±2,3
Q, мВ / Q, mV	–	–0,04±0,01*	–0,04±0,01*	–
Q, мс / Q, ms	–	23,0±2,5*	20,7±3,2	–
n с зубцем Q/n заг n with Q wave / n total	0/10	5/15*	6/15*	0/15

Примітки:
*статистично значимо, відносно групи норми, p < 0,05;
**статистично значимо, відносно групи контролю, p < 0,05.

Notes:
*statistically significant compared to the normal group, p < 0.05;
**statistically significant compared to the control group, p < 0.05.

У групі тварин після введення альгінатного імплантата (група 2) на 30-ту добу експерименту перед кожним комплексом QRS спостерігали позитивний зубець P, що відповідало правильному синусовому ритму. Тривалість зубця P становила 26,5 ± 2,2 мс (табл. 7). Істотних змін в електрокардіографічній

In the group of animals treated with alginate implant (Group 2), on day 30 of the experiment, positive P wave was observed before each QRS complex, corresponding to a regular sinus rhythm. The duration of the P wave was 26.5 ± 2.2 ms (Table 7). There were no significant changes in the electrocardiographic profile

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

картині щурів групи 2 в порівнянні з контрольною групою не відбувалось. У 6 з 15 щурів (40%) зберігались ознаки переднього і передньо-бічного некрозу міокарда, що підтверджувалось наявністю зубця Q або QS в I і avL відведенні.

Амплітуда зубця R в II відведенні досягала 0,21 ± 0,06 мВ, тривалість – 17 ± 6,3 мс. Величина зубця T у II відведенні була нижче рівня норми на 50%. Як і в контрольній групі, в I і avL відведенні відмічали негативний «ішемічний» зубець T, який характерний для підгострої стадії інфаркту міокарда. Тривалість інтервалу QT перебувала на рівні норми (74,7 ± 5,1 мс). Електрична вісь була незначно повернута вліво, кут α складав 34 ±0,7º.

Таким чином, за даними електрокардіографічного дослідження встановлено, що використання альгінатного гідрогелю не посилювало інтенсивність патологічних змін в міокарді лівого шлуночка і не гальмувало швидкість відновлювальних процесів в осередках некрозу та ішемії серцевого м'яза.

У групі використання альгінатного імплантата в поєднанні з ЕСцП (група 3) показники комплексу QRST на 30-ту добу максимально наближалися до показників норми (рис. 7, табл. 7).

of Group 2 rats compared to the control group. Signs of anterior and anterolateral myocardial necrosis persisted in 6 out of 15 rats (40%), confirmed by the presence of Q or QS wave in I and avL leads.

The amplitude of the R wave in lead II reached 0.21 ± 0.06 mV with a duration of 17 ± 6.3 ms. The amplitude of the T wave in lead II was below the normal level by 50%. Similar to the control group, negative «ischemic» T wave was observed in I and avL leads, characteristic of the subacute stage of myocardial infarction. The duration of the QT interval remained within normal limits (74.7 ± 5.1 ms). The electrical axis was slightly deviated to the left, with an angle α of 34 ± 0.7º.

Thus, according to electrocardiographic findings, the use of alginate hydrogel did not intensify pathological changes in the left ventricular myocardium and did not slow down the rate of recovery processes in the zones of necrosis and ischemia of the heart muscle.

In the group using alginate implant in combination with EScP (Group 3), QRST complex parameters on day 30 approached normal values to the maximum extent (Figure 7, Table 7).

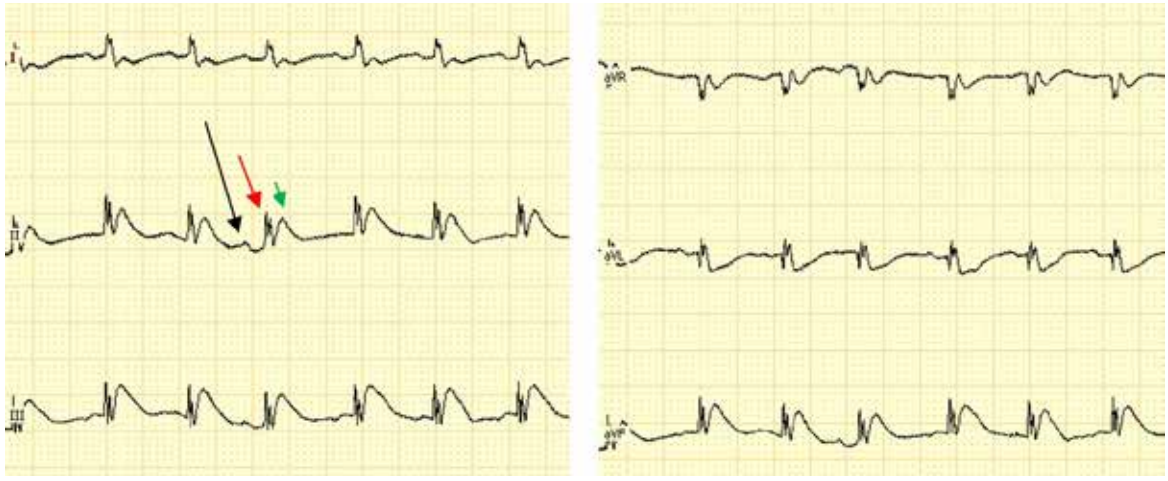


Рис. 7. Електрокардіограма щура після 30с кріодеструкції серця з введенням альгінатного імплантата з ЕСцП, 30-та доба: чорні стрілки – зубець P; червоні стрілки - зубець R; зелені стрілки – зубець T
Fig. 7. Rat electrocardiogram after 30 seconds of heart cryodestruction with introduction of alginate implant with EScP, day 30: black arrows – P wave; red arrows – R wave; green arrows – T wave

У тварин цієї групи був правильний, синусовий ритм. У II відведенні реєстрували позитивний зубець P, що повторюється перед кожним комплексом QRS. Тривалість зубця P становила 26 ± 1,7 мс (табл. 7). Форма комплексу QRS відповідала нормі. Патологічний зубець Q в стандартних відведеннях був відсутній. Величина зубця R у II відведенні була на рівні норми і досягала 0,26 ± 0,04 мВ, що свідчило про відновлення функції міокарда. В I і avL відведенні реєстрували негативний зубець T, що підтверджувало перенесений некроз міокарда (табл. 7). Показники ЧСС і тривалості інтервалу QT відповідали нормі. Електрична вісь серця була повернута вліво, а кут α (48,4 ± 1,6º) статистично значимо не відрізнявся від показника норми.

Таким чином, у щурів у групі після кріовтручання на серце і введення альгінатного імплантата з ЕСцП на 30-ту добу при контурному аналізі відзначали

Animals in this group had a normal sinus rhythm. Lead II recorded a positive P wave that repeated before each QRS complex. The P wave duration was 26 ± 1.7 ms (Table 7). The QRS complex shape was normal. Pathological Q wave in standard leads was absent. The R wave magnitude in lead II was normal at 0.26 ± 0.04 mV, indicating myocardial function restoration. Leads I and avL showed a negative T wave, confirming myocardial necrosis (Table 7). Heart rate and QT interval duration were within normal limits. The heart's electrical axis was leftward, with angle α (48.4 ± 1.6º) not statistically diffeent from normal.

Thus, in rats of the group following cryotreatment and alginate implantation with EScP on day 30, contour analysis highlighted the best electrocardiographic indicators of myocardial recovery.

Summarizing the results of contour analysis of electrocardiograms in the experimental animal groups,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

найкращі електрокардіографічні показники відновлення серцевого м'яза.

Підсумовуючи результати контурного аналізу електрокардіограм досліджуваних груп тварин можна зробити висновок, що протягом 30 діб після кріокардіодеструкції електрофізіологічні показники серця відображують відповідні морфофункціональні зміни серцевого м'яза.

Використання альгінатного гідрогелю в якості серцевого імплантата у здорових тварин не завдавало помітного впливу на ЕКГ-показники. Контурний аналіз ЕКГ показав, що на всі строки спостереження після оперативного втручання величини шлуночкових комплексів цієї групи не відрізнялися від норми. Це дає підстави для ствердження, що альгінатний імплантат можна використовувати в якості носія біологічно активних речовин або лікарських засобів.

За результатами аналізу ЕКГ встановлено, що локальна кріодеструкція серця призводить до електрокардіографічних змін, які свідчать про розвиток некрозу міокарда лівого шлуночка серця.

На 1-шу добу експерименту в контрольній групі відмічали порушення функції збудливості і провідності, що віддзеркалювалось, в першу чергу, на зубці Р, амплітуда якого була зменшена, або зубець Р був негативним, що свідчило про ретроградне збудження передсердь.

Згідно з літературними даними та за результатами наших попередніх досліджень, кріодеструкція серця приводить до первинного (раптового) некрозу міокарда безпосередньо під кріоаплікатором. Також під дією низьких температур відбуваються процеси вторинного некрозу внаслідок закупорки (тромбування) мікросудин серцевого м'яза. В центральній зоні кріодеструкції при температурі нижче –50° реалізуються механізми, які зумовлюють пошкодження і загибель клітин шляхом некрозу, тоді як в периферичній зоні при температурі вище –50° загибель клітин відбувається переважно в результаті апоптотичних процесів [17].

Слід зазначити, що при кріодеструкції серця є відсутньою ішемічна стадія, яка характерна для «класичного» інфаркту міокарда на тлі атеросклеротичного процесу вінцевих артерій. Тому вже у найгострішій стадії відмічали появу зубця Q або QS. Також ступінь пошкоджень після кріодії протягом 30 с веде до появи більш поширених і глибоких деструктивних вогнищ у серцевому м'язі, що визначається появою трансмурального некрозу міокарда.

Оскільки кріовтручання на серце з експозицією 30 с сприяє швидкому розвитку некротичних змін у міокарді, поява колатеральних анастомозів, які б відновлювали кровотік у зоні ураження міокарда, малоймовірна. Аналіз електрокардіограм показав, що майже у всіх тварин вже на 1-шу добу реєстрували зубець Q або QS.

На відміну від інфаркту міокарда, викликаного перев'язкою коронарної артерії, при кріокардіодеструкції на ЕКГ не відмічали елевацію сегмента ST (дуга Парді), яка свідчить про субепікардіальне ішемічне ушкодження міокарда у найгострішій стадії, а навпаки реєстрували депресію сегмента ST, який розташовувався нижче ізолінії, що вказувало на ендокардіальне ішемічне пошкодження міокарда.

it can be concluded that within 30 days after cryocardiodestruction, cardiac electrophysiological indicators reflected corresponding morpho-functional changes in the myocardium.

The use of alginate hydrogel as a cardiac implant in healthy animals did not significantly affect ECG indicators. Contour ECG analysis showed that throughout the observation period after surgery, ventricular complex sizes in this group did not differ from normal. This suggests that the alginate implant can be used as a carrier for biologically active substances or drugs.

Based on ECG analysis, it is established that local heart cryodestruction leads to electrocardiographic changes indicative of left ventricular myocardial necrosis development.

On day 1 of the experiment, the control group animals showed excitability and conductivity disturbances primarily reflected in the P wave, either with reduced amplitude or negative P wave, indicating retrograde atrial excitation.

According to literature data and our previous research results, heart cryodestruction leads to primary (acute) myocardial necrosis directly under the cryoapplicator. Additionally, low-temperature effects cause secondary necrosis due to microvessel occlusion (thrombosis) in the heart muscle. Mechanisms in the central zone of cryodestruction at temperatures below –50 lead to cell damage and death by necrosis, whereas in the peripheral zone at temperatures above –50, cell death primarily occurs due to apoptotic processes [17].

It should be noted that ischemic stage, characteristic of «classic» myocardial infarction due to atherosclerotic coronary artery disease, is absent during heart cryodestruction. Therefore, even in the acute phase, the appearance of the Q wave or QS is noted. Also, the extent of damage after cryoexposure over 30 seconds results in more extensive and deep destructive foci in the heart muscle, resolving with transmural myocardial necrosis appearance.

Since heart cryoexposure for 30 seconds promotes rapid myocardial necrotic changes, collateral anastomoses development restoring blood flow in the myocardial damage area is unlikely. ECG analysis showed that nearly all animals already showed Q wave or QS on day 1.

Unlike myocardial infarction caused by coronary artery ligation, cryocardiodestruction on ECG did not show ST segment elevation (Pardi's arc), indicative of subepicardial ischemic myocardial damage in the acute phase. Conversely, ST segment depression below the isoelectric line was recorded, indicating endocardial ischemic myocardial damage.

Heart rate decreased to 380 beats/min, reflected in QT interval prolongation, which increased to 93.3 ± 4.1 ms, more than 20% above normal. As known, the QT interval is the time from the start of depolarization (beginning of Q wave) to the end of repolarization of the ventricular myocardium (end of T wave), one of the most clinically significant ECG parameters. It reflects the total duration of ventricular electrical activity, including depolarization and repolarization. QT interval prolongation indicates slowed and asynchronous repolarization of the ventricular myocardium, hence heterogeneity of ventricular myocardial repola-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ЧСС знижувалася до 380 скорочень/хв, що автоматично відбивалося на тривалості інтервалу QT, показник якої збільшувався до 93,3 ± 4,1 мс, тобто більш як на 20% від норми. Як відомо, інтервал QT – це проміжок часу між початком процесу деполяризації (початок зубця Q) і завершенням реполяризації міокарда шлуночків (кінець хвилі Т), є одним із найбільш клінічно значущих параметрів ЕКГ. Він відображає тривалість загальної електричної активності шлуночків, включаючи і деполяризацію, і реполяризацію. Подовження інтервалу QT свідчить про сповільнену й асинхронну реполяризацію міокарда шлуночків, тобто гетерогенність реполяризації міокарда шлуночків тісно пов'язана з тривалістю інтервалу QT і є предиктором фатальних порушень серцевого ритму.

Слід зазначити, що на 1-шу добу значних відмінностей між електрокардіограмами контрольної і інших експериментальних груп не виявлено.

Під час аналізу змін в електрокардіограмах щурів контрольної групи в динаміці, протягом всього строку спостереження відмічали зміну стадій, які притаманні ІМ, від найгострішої до рубцевої стадії. Відмінністю розвитку кріонекрозу міокарда від перебігу «класичного» ІМ є строки змін стадій. Відсутність стадії ішемії на початку призводить до прискорення розвитку запальної реакції. На 7-му добу відмічено подальше зростання амплітуди зубця Q в I і avL відведенні. Посилення електрокардіографічних змін певною мірою пов'язане з розвитком вторинного некрозу, зумовленого тромбозом мікросудин, незважаючи на появу позитивного зубця Р, та незначне зниження інтервалу QT в порівнянні з електрокардіографічною картиною 1-ї доби. На 14-ту добу експерименту величина зубця Q в I і avL відведенні залишалася на рівні попереднього терміну спостереження. Кількість тварин, у яких реєстрували передньо-бічний трансмуральний некроз міокарда, знижувалась на третину. За нашими попередніми даними морфологічного дослідження на 14-ту добу після кріодеструкції серця в міокарді щурів на перший план виходять ознаки сполучно-тканинної проліферації, а явища запальної реакції різко знижуються. Разом з тим, на ЕКГ в I і avL відведеннях відмічали депресію сегмента ST і негативний зубець Т, як ознаки субендокардіального ішемічного пошкодження і субепікардіальної ішемії відповідно. Електрокардіограми тварин контрольної групи на 30-ту добу демонстрували ознаки як підгострої, так і рубцевої стадії інфаркту міокарда. Кількість тварин, у яких фіксували патологічний зубець Q та QS дорівнювала 5, що складало 33% від загальної кількості. Таким чином, у тварин контрольної групи протягом 30-ти діб реєстрували електрокардіографічні зміни, які свідчили про деструктивні та відновні процеси в серцевому м'язі. Незважаючи на прискорення стадії розвитку некрозу міокарда, тривалість відновлювальних процесів і процесів ремоделювання серця досить розтягнута в часі.

Аналізуючи динаміку електрокардіографічних показників щурів групи 2 слід відмітити, що введення альгінатного імплантата в зону кріопошкодження стінки лівого шлуночка не сприяло прискоренню

rization duration and is a predictor of fatal cardiac rhythm disturbances.

It should be noted that there were no significant differences in ECGs between the control and other experimental groups on day 1.

Analyzing changes in electrocardiograms of control group rats dynamically throughout the observation period, changes in stages typical of MI from the acute to the scar stage were noted. The difference in cryonecrosis myocardial development from the «classic» MI course is the stage change time. The absence of an ischemic stage at the beginning accelerates the inflammatory reaction development. On day 7, further increase in Q wave amplitude in leads I and avL was noted. Strengthening electrocardiographic changes were somewhat associated with secondary necrosis development due to microvessel thrombosis despite the appearance of a positive P wave and slight QT interval reduction compared to the ECG picture on day 1. On day 14 of the experiment, the Q wave magnitude in leads I and avL remained at the previous observation period level. The number of animals with anterior-lateral transmural myocardial necrosis decreased by a third. According to our previous morphological study data on day 14 after heart cryodestruction, signs of connective tissue proliferation predominated in the myocardium, and inflammatory reaction sharply decreased. However, ST segment depression and negative T wave were noted in leads I and avL, indicating subendocardial ischemic myocardial damage and subepicardial ischemia, respectively. ECGs of control group animals on day 30 showed signs of both subacute and scar stage myocardial infarction. The number of animals with pathological Q wave and QS was 5, which constituted 33% of the total.

Thus, in animals of the control group within 30 days, electrocardiographic changes were recorded indicative of destructive and reparative processes in the myocardium. Despite the acceleration of myocardial necrosis development stage, the duration of recovery and cardiac remodeling processes were quite prolonged.

Analyzing the dynamics of electrocardiographic indicators of group 2 rats, it should be noted that alginate implant introduction into the left ventricular wall cryodamage zone did not contribute to accelerated myocardial recovery. No significant differences were found between the control group and the alginate implant group indicators. The number of animals with transmural myocardial necrosis did not significantly differ from the control group at all observation times. Alginate hydrogel introduction led to the formation of a denser implant in the cryodamage zone, which is expected to gradually biodegrade but did not affect myocardial contractile function. QT interval duration was increased on day 1 and gradually approached normal values during the experiment. An important result of ECG analysis in this group is the fact that no enhancement of necrosis development was observed after alginate introduction into the myocardium. Thus, it is shown that alginate implant for biological object represents an indifferent substance that does not enhance destructive and inflammatory processes and can be used as a carrier of biologically active substances or drugs for their delivery into the damage zone.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

відновлення серцевого м'яза. Достовірно значущих відмінностей між показниками контрольної групи та групи з введенням альгінатного імплантата не виявлено. Кількість тварин, у яких реєстрували трансмуральний некроз міокарда, достовірно значуще не відрізнялась від контрольної групи на всіх строках спостереження. Введення альгінатного гідрогелю призводило до формування в зоні кріопошкодження більш щільного імплантата, який поступово має біодеградувати, але це ніяким чином не відображалось на скоротливій функції міокарда. Тривалість інтервалу QT була збільшена на 1-шу добу, а протягом експерименту поступово наближалась до показників норми. Важливим результатом аналізу ЕКГ цієї групи являється той факт, що після введення альгінату в серцевий м'яз посилювань розвитку некрозу також відмічено не було. Тобто, показано, що альгінатний імплантат для біологічного об'єкта представляє індиферентну речовину, яка не посилює деструктивні та запальні процеси, і може бути використана в якості носія біологічно активних речовин або лікарських засобів для їх доставки в зону пошкодження. Вірогідно, альгінатний імплантат поступово вивільнювався з зони кріонекрозу, не перешкоджаючи процесам запалення та проліферації фібробластів при формуванні та дозріванні сполучнотканинного рубця.

Після моделювання кріонекрозу міокарда в групі з використанням альгінатного імплантата, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят, на кардіограмах реєстрували відповідні зміни, які свідчили про захисну дію досліджуваного об'єкта. На 1-шу добу експерименту введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП, в зону кріоушкодження міокарда сприяло збереженню джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла, що відображалось у наявності низькоамплітудного позитивного зубця Р. Кількість тварин з Q-позитивним некрозом міокарда відмічалось на рівні 80%. Достовірно значущих відмінностей в електрокардіографічних показниках між групами відмічено не було.

На 7-му добу у 46% піддослідних тварин групи 4 відмічали відновлення електричної провідності і скоротливої функції міокарда. В I і avL відведенні реєстрували високий зубець R. В II відведенні його величина становила 0,23 ± 0,02 мВ, що на 43% більше контрольної групи, достовірно значимо відрізнялась від інших експериментальних груп і максимально наближалася до групи норми. Представляється вірогідним, що використання комплексу «альгінатний гідрогель + екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят» сприяло відновленню паранекротичної зони навколо кріодеструкції саме завдяки вивільненню пептидних комплексів із альгінатного імплантата. Ймовірно, терапевтичний ефект кріоконсервованого екстракту серця поросят полягає в зниженні активності загального асептичного запалення міокарда, ангіогенезі і, як наслідок, нормалізації кровопостачання пошкоджених тканин, активації репаративної регенерації збережених кардіоміоцитів шляхом їх гіпертрофії.

Біологічна дія екстрактів пов'язана з наявністю в них регуляторних пептидів. На сьогодні регуляторні пептиди виділяють як самостійний клас речовин,

After modeling myocardial cryonecrosis in the group using an alginate implant saturated with cryopreserved pig heart fragments extract, corresponding changes were recorded on electrocardiograms, indicating the protective action of the study object. On day 1 of the experiment, the introduction of an alginate implant saturated with EScP into the myocardial cryodamage zone contributed to maintaining the myocardium excitation source at the sinus-atrial node level, reflected in the presence of a low-amplitude positive P wave. The number of animals with Q-positive myocardial necrosis was noted at 80%. No significant differences in electrocardiographic parameters between groups were found.

On day 7, 46% of experimental group 4 animals noted restoration of electrical conduction and myocardial contractile function. In leads I and avL, a high R wave was recorded. In lead II, its magnitude was 0.23 ± 0.02 mV, which was 43% higher than the control group, significantly different from other experimental groups, and maximally approached the normal group. It seems likely that the use of «alginate hydrogel + extract of cryopreserved pig heart fragments» complex contributed to the restoration of the perinecrotic zone around cryodestruction due to the release of peptide complexes from the alginate implant. It is likely that the therapeutic effect of the cryopreserved pig heart extract lies in reducing the overall activity of aseptic myocardial inflammation, angiogenesis, and, as a result, normalizing blood flow to damaged tissues, activating reparative regeneration of surviving cardiomyocytes through hypertrophy.

The biological effect of extracts is associated with the presence of regulatory peptides in them. Currently, regulatory peptides are recognized as an independent class of substances that complete the chain in the metabolic sequence of transformation of primary genetic information: genome-transcriptome-proteome-peptide [5]. Literature sources indicate that the use of regulatory peptides contributes to the improvement of microhemocirculatory flow in the heart and, consequently, stimulates processes of reparative regeneration in damaged myocardium [18].

On day 14 in animals of the 3 groups, a positive effect of biologically active substances on the formation of the QRST complex was observed. The R wave amplitude in lead II reached 0.24 ± 0.04 mV, which is significantly higher than the control group by 60%, as well as compared to other experimental groups. The increase in R wave amplitude indicates the restoration of conduction and contractile function of the left ventricular myocardium. Thus, by day 14, the combination group using alginate implant and EScP showed electrocardiogram indicators closest to normal levels.

By day 30, myocardial recovery processes reached the final scar formation stage. During this observation period, group 4 animals exhibited QRS complex shapes corresponding to normal. Cardiac remodeling was minimal, evidenced by the absence of animals with a registered Q wave. Contour analysis of the electrocardiograms of group 3 rats showed the best indicators of heart muscle recovery.

Thus, the use of extracts of cryopreserved fragments of pig hearts as a biologically active compound

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

які завершують ланку в метаболічній послідовності перетворення первинної генетичної інформації: геном-транскриптом-протеом-пептидом [5]. З літературних джерел відомо, що використання регуляторних пептидів сприяє поліпшенню стану мікрогемоциркуляторного русла серця, і, відповідно, стимуляції процесів репаративної регенерації в пошкодженому міокарді [18].

На 14-ту добу у тварин групи 3 виявлено позитивний вплив біологічно активних речовин на формування комплексу QRST. Амплітуда зубця R в II відведенні досягала 0,24 ± 0,04 мВ, що достовірно вище контрольної групи на 60%, а також в порівняні з іншими експериментальними групами. Збільшення амплітуди зубця R свідчить про відновлення провідної і скорочувальної функції міокарда лівого шлуночка. Таким чином, на 14-ту добу в групі поєднаного використання альгінатного імплантата і ЕсцП, показники електрокардіограм були найбільш наближені до рівня норми.

На 30-ту добу процес відновлення міокарда приходив до завершальної стадії рубцювання. На цей строк спостереження в групі 4 форма комплексу QRS відповідала нормі. Ремоделювання серця було мінімальним, про що свідчить відсутність тварин, у яких реєстрували зубець Q. При контурному аналізі електрокардіограм щурів групи 3 відзначали найкращі показники відновлення серцевого м'яза.

Таким чином, використання екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят в якості біологічно активної сполуки на альгінатному носії на тлі інфаркту міокарда, викликаного локальною кріодеструкцією серця, сприяло прискореному відновленню міокарда лівого шлуночка відносно інших експериментальних груп.

on an alginate carrier against the background of myocardial infarction caused by local cryodestruction of the heart accelerated the restoration of the left ventricular myocardium compared to other experimental groups.

ВИСНОВКИ

Аналіз електрокардіограм здорових щурів після введення альгінатного гідрогелю у серцевий м'яз показав, що зберігається правильний синусовий ритм, комплекси QRST зберігають свою форму і тривалість, тобто альгінатний імплантат не сприяє появі патологічних змін на ЕКГ.

За електрофізіологічними показниками серця щурів введення альгінатного імплантата в зону кріопошкодження стінки лівого шлуночка не сприяє прискоренню відновлення серцевого м'яза, проте і посилювань розвитку некрозу також не відмічається. Тобто, показано, що альгінатний імплантат при введенні в зону інфаркту міокарда є індиферентною речовиною, яка не посилює деструктивні та запальні процеси, і може бути використана як носій біологічно активних речовин або лікарських засобів для їх доставки в зону пошкодження. Вірогідно, альгінатний імплантат поступово вивільнюється із зони некрозу, не перешкоджаючи процесам запалення та проліферації фібробластів при формуванні та дозріванні сполучно-тканинного рубця.

Використання екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят в якості біологічно активної сполуки на альгінатному носії на тлі некрозу міокарда, викликаного локальною кріодеструкцією серця,

CONCLUSIONS

Analysis of electrocardiograms of healthy rats after introduction of alginate hydrogel into the myocardium showed that normal sinus rhythm is maintained, QRS complexes retain their shape and duration, indicating that alginate implant does not contribute to pathological changes on ECG.

Based on electrophysiological parameters of rat hearts, introduction of alginate implant into the zone of left ventricular wall cryodamage does not accelerate myocardial recovery or exacerbate necrosis development. Thus, it is shown that alginate implant, when introduced into the myocardial infarction zone, is an indifferent substance that does not enhance destructive and inflammatory processes. It can be used as a carrier for biologically active substances or drugs for their delivery to the injury site. Likely, the alginate implant gradually releases from the necrotic zone without hindering inflammation and fibroblast proliferation during scar tissue formation and maturation.

The use of extracts of cryopreserved pig heart fragments as a biologically active compound on an alginate carrier against the background of myocardial necrosis caused by local cryodestruction of the heart accelerates the restoration of the left ventricular myocardium compared to experimental groups, with

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

сприяє прискореному відновленню міокарда лівого шлуночка відносно експериментальних груп, що має відповідні підтвердження на електрокардіограмах. Якщо в контролі після локальної кріодеструкції міокарда на 1-шу добу спостерігається транзиторне порушення нормальної провідності серця, перехід ролі водія ритму від синоатріального до атріовентрикулярного вузла, що на ЕКГ відповідає відсутності зубця Р або наявності негативного зубця Р, то введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП, в зону кріоушкодження міокарда вже на 1-шу добу сприяє збереженню джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла, що відображається в наявності позитивного зубця Р. На 7-му добу в групі з ЕСцП в альгінатному гелі, на відміну від груп порівняння, реєструється високий зубець R, за амплітудою і тривалістю наближуючись до рівня норми, що свідчить про відновлення скоротливої функції міокарда. На 30-ту добу спостереження в групі з ЕСцП в альгінатному гелі форма комплексу QRS відповідає нормі, а ознаки ремоделювання серця є мінімальними, про що свідчить відсутність тварин із зареєстрованим зубцем Q, тоді як в інших групах до 40% тварин мають ознаки перенесеного трансмурального некрозу міокарда зі збереженням на ЕКГ зубця Q.

corresponding confirmation on electrocardiograms. If transient disturbances of normal cardiac conduction are observed in controls after local cryodestruction of the myocardium on day 1, with the transition of the pacemaker role from the sinoatrial node to the atrioventricular node, reflected in the absence of P wave or presence of a negative P wave on ECG, introduction of alginate implant saturated with EScP into the myocardial cryodamage zone on day 1 contributes to the preservation of myocardial excitability source at the sinoatrial node level, reflected in the presence of a positive P wave. By day 7 in the EScP group in alginate gel, unlike the comparison groups, a high R wave is registered, approaching the norm in amplitude and duration, indicating restoration of myocardial contractile function. By day 30 of observation, the QRS complex shape in the EScP group in alginate gel corresponds to the norm, and signs of cardiac remodeling are minimal, evidenced by the absence of animals with a registered Q wave on ECG, while in other groups up to 40% of animals have signs of transmural myocardial necrosis with retention of the Q wave on ECG.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Стабільна ішемічна хвороба серця. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. URL: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/12/2021_2857_ykpmd_stabihs.pdf
2. Аксьонов Є.В., Головенко В.Б. Фактори ризику розвитку відстрочених рестенозів у пацієнтів з малим діаметром коронарних артерій після проведених рентген-ангіографічних процедур. *Вісник серцево-судинної хірургії.* 2018. № 1(30). С. 10–15. URL: https://www.cvs.org.ua/cvs-herald/_publs_/herald_30/30_001.pdf
3. Суходуб Л.Ф. Протеоміка, Мас-Спектрометрія, Рак. *Вісник СумДУ. Серія «Медицина»*. 2011. № 2. С. 24–34. URL: https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream-download/123456789/24236/1/4.pdf;jsessionid=65A4322ED1ECA645ED140CBFE6852155
4. Бабаєва А.Г., Рогоза Л.А., Чиж М.О. та ін. Вплив екстрактів серця на міокард. *Вісник невідкладної та відновлювальної терапії.* 2012. № 1(13). С. 16–18.
5. Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П. Екстракти кріоконсервованих фрагментів органів свиней та поросят як компонент відновної медицини. *Доповіді національної академії наук України.* 2017. № 7. С. 91–97. DOI: https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.07.091
6. Choi B., Loh X.J., Tan A. et al. Introduction to in situ forming hydrogels for biomedical applications. *In Situ Gelling Polymers.* 2015. P. 5–35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-287-152-7_2
7. Muller R., Keck C. Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs – a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of biotechnology.* 2004. Vol. 113. P. 151–170. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.06.007
8. Annabi N. Rational design and applications of hydrogels in regenerative medicine. *Advanced materials.* 2014. Vol. (26). P. 85–123. DOI: https://doi.org/10.1002/adma.201303233
9. Sun J., Tan H. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials*. 2013. № 6(4). P. 1285–1309. DOI: https://doi.org/10.3390/ma6041285
10. Shkand T.V., Chizh M.O., Sleta I.V., Sandomirsky B.P., Tatarets A.L., Patsenker L.D. Assessment of alginate hydrogel degradation in biological tissue using viscosity-sensitive fluorescent dyes. *Methods and Applications in Fluorescence.* 2016. № 4(4). P. 1–12. DOI: https://doi.org/10.1088/2050-6120/4/4/044002
11. Гальченко С.Є., Шкодовська Н.Ю., Сандомирський Б.П., Грищенко В.І. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів. Пат. 64381 А Україна: МПК7 А61К35/12.; ІПКіК НАН України. № 2003054649; Заявл. 22.05.2003; Опубл. 16.02.2004; Бюл. №2. URL: https://uapatents.com/1-64381-sposib-otrimannya-ekstraktiv-ksenogennikh-organiv.html

REFERENCES

1. Stable ischemic heart disease. Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care. 2021. (In Ukrainian) URL: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/12/2021_2857_ykpmd_stabihs.pdf
2. Aksenov EV, Golovenko VB. Risk factors for the development of delayed restenosis in patients with low coronary artery diameter after performed X-ray angiographic procedures. *Journal of Cardiovascular Surgery.* 2018;1(30):10–5. (In Ukrainian). URL: https://www.cvs.org.ua/cvs-herald/_publs_/herald_30/30_001.pdf
3. Sukhodub LF. Proteomics, mass-spectrometry, cancer. *Bulletin of Sumy State University. Series «Medicine»*. 2011;2:24–34. (In Ukrainian). URL: https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream-download/123456789/24236/1/4.pdf;jsessionid=65A4322ED1ECA645ED140CBFE6852155
4. Babaieva GG, Rogoza LA, Chizh MO, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Effects of heart extracts on myocardium. *Bulletin of emergency and restorative therapy.* 2012;1(13):16–8. (In Ukrainian).
5. Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Extracts of cryopreserved fragments of organs of pigs and piglets as a component of restorative medicine. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine.* 2017;7:91–7. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.07.091
6. Choi B, Loh XJ, Tan A et al. Introduction to in situ forming hydrogels for biomedical applications. *In Situ Gelling Polymers*. 2015;5–35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-287-152-7_2
7. Muller R, Keck C. Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs – a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of biotechnology*. 2004;1–3(113):151–70. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.06.007
8. Annabi N. Rational design and applications of hydrogels in regenerative medicine. *Advanced materials.* 2014;26(1):85–123. DOI: https://doi.org/10.1002/adma.201303233
9. Sun J, Tan H. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials*. 2013:6:1285–309. DOI: https://doi.org/10.3390/ma6041285
10. Shkand TV, Chizh MO, Sleta IV, Sandomirsky BP, Tatarets AL, Patsenker LD. Assessment of alginate hydrogel degradation in biological tissue using viscosity-sensitive fluorescent dyes. *Methods and Applications in Fluorescence*. 2016:4. (4):1–12. DOI: https://doi.org/10.1088/2050-6120/4/4/044002
11. Galchenko SE, Shkodovska NYu, Sandomirskyi BP, Hryshchenko VI. The method of obtaining extracts of xenogenic organs. Stalemate. 64381 A Ukraine: MPK7 A61K35/12.; IPKiK of the National Academy of Sciences of Ukraine. № 2003054649; Application 05/22/2003; Publ. 16.02.2004; Bul. № 2. (In Ukrainian). URL: https://uapatents.com/1-64381-sposib-otrimannya-ekstraktiv-ksenogennikh-organiv.html

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

12. Гальченко С.Є. Екстракти кріоконсервованих фрагментів ксеноорганів: одержання та біологічна дія. *Проблеми кріобіології*. 2005. № 3(15). С. 403–406. URL: http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1142
13. Sleta I.V., Chizh N.A., Galchenko S.Ye., Sandomirsky B.P. Myocardium necrosis modelingby cryotecnology. *Biotechnology*. 2011. № 4(4). P. 73−79. URL: http://biotechnology.kiev.ua/index.php?option=com_content&view=article&id=157%3A2011-12-03-18-48-56&catid=34%3A2011no4&Itemid=38&lang=ru.
14. Chizh M.O. Ways of registering electrocardiograms in rats for analyzing heart rate variability. *Experimental and clinical medicine*. 2015. № 3(68). P. 44–47. URL: https://ecm.knmu.edu.ua/issue/archive/2
15. Фатула М.І., Шютєв М.М., Свистак В.В., Рішко О.А., Чекан К.А. Основи практичної електрокардіографії. *Навчальний посібник*. Ужгород УжНУ-2007. 79 с.
16. Світлик Г.В., Гарбар М.О., Базилевич А.Яс. Ліки України. 2012. № 6(162). С. 41–44. URL: http://www.health-medix.com/articles/liki_ukr/2012-08-14/oglyad_3.pdf
17. Chizh N.A. Endoscopic Cryosurgery. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2017; № 1(27). P. 3–18. DOI: https://doi.org/10.15407/cryo27.01.003
18. Kjolbye A.L., Knudsen C. B., Jepsen T. et al. Pharmacological characterization of the new stable antiarrhythmic peptide analog Ac-D-Tyr-D-Pro-D-Hyp-Gly-D-Ala-Gly-NH2 (ZP123): *in vivo* and *in vitro* studies. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 2003. № 306. P. 1191–1199. DOI: https://doi.org/10.1124/jpet.103.052258

12. Galchenko SE. Extracts of cryopreserved fragments of xenoorgans: procurement and biological effect. *Problems of Cryobiology.* 2005;3(15):403–6. URL: http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1142
13. Sleta IV, Chizh NA, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Myocardium necrosis modelingby cryotecnology. *Biotechnology*. 2011;4(4):73−9. (In Ukrainian). URL: http://biotechnology.kiev.ua/index.php?option=com_content&view=article&id=157%3A2011-12-03-18-48-56&catid=34%3A2011no4&Itemid=38&lang=ru.
14. Chizh MO. Ways of registering electrocardiograms in rats for analyzing heart rate variability. *Experimental and clinical medicine*. 2015;3(68):44–7. (In Ukrainian). URL: https://ecm.knmu.edu.ua/issue/archive/2
15. Fatula MI, Shyutev MM, Svystak VV, Rishko OA, Chekan KA. Fundamentals of practical electrocardiography. *Study guide*. Uzhgorod. UzhNU 2007;79. (In Ukrainian)
16. Svitlyk GV, Grabar MO, Bazylevych AJa. The Prognostic Value of QT Interval in Acute Myocardial Infarction. *Medicines of Ukraine.* 2012;6 (162):41–4. (In Ukrainian) URL: http://www.health-medix.com/articles/liki_ukr/2012-08-14/oglyad_3.pdf
17. *Chizh NA. Endoscopic Cryosurgery. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2017;1 (27):3–18. DOI: https://doi.org/10.15407/cryo27.01.003*
18. Kjolbye AL, Knudsen CB, Jepsen T et al. Pharmacological characterization of the new stable antiarrhythmic peptide analog Ac-D-Tyr-D-Pro-D-Hyp-Gly-D-Ala-Gly-NH2 (ZP123): in vivo and in vitro studies. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 2003;306:1191–9. DOI: https://doi.org/10.1124/jpet.103.052258

Перспективи подальших досліджень / Prospects for further research

При вивченні електрокардіограм щурів планується провести дослідження варіабельності серцевого ритму у щурів з кріоінекрозом міокарда під впливом екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю.

When studying the electrocardiograms of rats, research on heart rate variability is planned to be conducted in rats with cryo-infarction of the myocardium under the influence of extracts of cryopreserved pig heart fragments in alginate gel.

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 declare consciously that there are no actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, or other Institutions whose products, services, or financial support may be related to the subject matter of the submitted materials or that sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування / Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України.
Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України «Особливості перебігу деструктивно-запальних та репаративних процесів під впливом низьких температур та кріоекстрактів органів ссавців», номер державної реєстрації 0121U113328, шифр теми: НАН України 2.2.6.147, термін виконання: 2022–2026 рр., керівник – завідувач відділу експериментальної медицини, старший дослідник, кандидат медичних наук М.О. Чиж.

Funding is provided by the State Budget of Ukraine.
This article is a fragment of the planned research work of the Institute of Cryobiology and Cryomedicine Problems of the National Academy of Sciences of Ukraine titled «Features of the course of destructive-inflammatory and reparative processes under the influence of low temperatures and cryoextracts of mammalian organs», State registration number 0121U113328, topic code: NAS of Ukraine 2.2.6.147, term of execution: 2022–2026, supervisor – Acting head of the Department of Experimental Medicine, Senior Researcher, Candidate of Medical Sciences M.O. Chyzh.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ / INFORMATION ABOUT AUTHORS

Бєлочкіна Ірина Владіславівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;
e-mail: ibelochkina@ukr.net
моб.: +38 (097) 252-55-12
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті.*

Belochkina Iryna Vladyslavivna – Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Department of Experimental Cryomedicine Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23 Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;
e-mail: ibelochkina@ukr.net
tel.: +38 (097) 252-55-12
Author's contribution: *research concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing, research concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing.*

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Чиж Микола Олексійович – кандидат медичних наук, старший дослідник, завідувач відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;
e-mail: n.chizh@ukr.net
моб.: +38 (097) 361-68-61
Внесок автора: *формулювання мети та висновків роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

Слета Ірина Вадимівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;
e-mail: isleta@ukr.net
моб.: +38 (067) 306-61-52
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті.*

Шканд Тетяна Віталіївна – лікар-гастроентеролог Товариства з обмеженою відповідальністю «Медичний центр Он клінік Харків палац спорту»; просп. Героїв Харкова, буд. 257, м. Харків, Україна, 61002;
e-mail: shkand.tanya@gmail.com
моб.: +38 (097) 370-70-13
Внесок автора: *написання статті, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, підбір літературних джерел за темою роботи.*

Chyzh Mykola Oleksiiovych – 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; 23 Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;
e-mail: n.chizh@ukr.net
tel.: +38 (097) 361-68-61
Author's contribution: *formulation of the purpose and conclusions of the work, conducting experimental studies, analysis of the obtained data and their statistical processing.*

Sleta Iryna Vadymivna – Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Department of Experimental Cryomedicine Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23 Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;
e-mail: isleta@ukr.net
tel.: +38 (067) 306-61-52
Author's contribution*: selection of literary sources on the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article.*

Skand Tetyana Vitalyivna – a gastroenterologist «Medical Centre On Clinic Kharkiv Palats Sportu» Limited Liability Company; 257 Heroiv Kharkiv Ave., Kharkiv, Ukraine, 61002;
e-mail: shkand.tanya@gmail.com
tel.: +38 (097) 370-70-13
Author's contribution: writing an article, collecting data, analyzing and interpreting data, selecting literary sources on the topic of the work.

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 06.05.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 20.06.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 339–345
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):339–345

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-05
УДК: 613.2.03-053.4(477.74)

Оцінка харчування дітей раннього віку в Одеському районі

Сопель О.М., https://orcid.org/0000-0003-3807-1317, e-mail: sopel@tdmu.edu.ua
Денефіль О.В., https://orcid.org/0000-0002-3606-5215, e-mail: denefil@tdmu.edu.ua

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, Тернопіль, Україна

Evaluation of nutrition of young children in Odesa district

Sopel O.M., https://orcid.org/0000-0003-3807-1317, e-mail: sopel@tdmu.edu.ua
Denefil O.V., https://orcid.org/0000-0002-3606-5215, e-mail: denefil@tdmu.edu.ua

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine

Ключові слова:

діти раннього віку, режим харчування, білки, жири, вуглеводи.

Для кореспонденції:

Денефіль Ольга Володимирівна
Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, кафедра патологічної фізіології;
майдан Волі, буд. 1, м. Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: denefil@tdmu.edu.ua

© *Сопель О.М., Денефіль О.В., 2024*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Основним чинником, який забезпечує здоров'я та гармонійний розвиток дитини, як на ранніх етапах, так і в наступні періоди її життя, є раціональне харчування. Широка поширеність аліментарно-залежних форм патології серед дітей, недостатня обізнаність лікарів та батьків, а також порушення в організації харчування дітей раннього віку зумовлюють актуальність даної роботи та необхідність проведення всебічного аналізу фактичного харчування дітей віком від 1 до 2 років для його покращення.
Мета роботи – встановити особливості харчування дітей віком від 1 до 2 років життя для оптимізації їх харчових раціонів.
Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 42 здорових дитини віком від 1 до 2 років, які проживали в Одеському районі. Використовували клініко-анамнестичні методи; дієтологічні; антропометричні – зріст, маса тіла; соціологічні – анкетування; статистичні.
Результати та їх обговорення. Сформульовано закономірності організації харчування та споживання основних макронутрієнтів дітьми віком від 1 до 2 років, що характеризуються адекватним споживанням основних продуктів харчування, за винятком надлишкового споживання сиру, фруктових соків та твердого сиру, і недостатнього використання збагачених продуктів промислового випуску. Показано, що надмірні обсяги їжі, неадекватний режим харчування у вигляді багаторазових перекусів та інколи нічних годувань, а також необґрунтоване використання продуктів, не призначених для дітей віком від 1 до 2 років, є суттєвими порушеннями організації харчування дітей цієї вікової групи. Встановлено, що раціони дітей віком від 1 до 2 років розбалансовані за вмістом білків, жирів, вуглеводів. Виявлені порушення структури харчування дітей раннього віку, незбалансованість його за макронутрієнтним складом диктують необхідність регулярного контролю з боку педіатрів та сімейних лікарів за організацією харчування дітей даного вікового періоду.
Висновки. Структура харчування дітей віком від 1 до 2 років характеризується незбалансованістю раціонів за білками, жирами, вуглеводами, яка зумовлена порушеннями режиму годування, переїданням, раннім переходом на «сімейний» стіл. Діти раннього віку споживають надмірну кількість білка та жиру порівняно з рекомендованими фізіологічними нормами та недостатню кількість вуглеводів відповідно до віку.

Для цитування:

Сопель О.М., Денефіль О.В. Оцінка харчування дітей раннього віку в Одеському районі. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 339–345. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-05

Key words:

young children, diet, proteins, fats, carbohydrates.

ABSTRACT

Background. The main factor that ensures the health and harmonious development of a child, both in the early stages and in the later periods of his life, is rational nutrition. The widespread prevalence of food-dependent forms of pathology among children,

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 339–345
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):339–345

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

For correspondence:

Denefil Olha Volodymyrivna
Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Department of Pathophysiology;
1 Maidan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail: denefil@tdmu.edu.ua

© *Sopel O.M., Denefil O.V., 2024*

insufficient awareness of doctors and parents, as well as violations in the organization of nutrition of young children determine the relevance of this work and the need for a comprehensive analysis of the actual nutrition of children aged 1 to 2 years for its improvement.

Purpose – to purpose of the work is to establish the nutritional characteristics of children aged from 1 to 2 years in order to optimize their diets.

Materials and Methods. 42 healthy children aged 1 to 2 years who lived in Odesa district took part in the study. In work were used such methods: clinical and anamnestic; dietary; anthropometric – height, weight; sociological – questionnaires; statistical.

Results. The patterns of food organization and consumption of the main macronutrients by children aged 1 to 2 years are formulated, which are characterized by adequate consumption of basic food products, with the exception of excessive consumption of cheese, fruit juices and hard cheese and insufficient use of enriched industrial products. It is shown that excessive amounts of food, inadequate nutrition in the form of multiple snacks and sometimes night feedings, as well as unreasonable use of products not intended for children aged 1 to 2 years, are significant violations of the organization of nutrition of children of this age group. It was established that the diets of children aged 1 to 2 years are unbalanced in terms of the content of proteins, fats, and carbohydrates. Identified violations of the nutrition structure of young children, its imbalance in terms of macronutrient composition dictate the need for regular control by pediatricians and family doctors over the organization of nutrition for children of this age period.

Conclusions. The nutrition structure of children aged 1 to 2 years is characterized by an imbalance of rations in terms of proteins, fats, and carbohydrates, which is due to violations of the feeding regime, overeating, and early transition to the «family» food-table. Young children consume excessive amounts of protein and fat compared to recommended physiological norms and insufficient amounts of carbohydrates according to their age.

For citation:

Sopel OM, Denefil OV. Evaluation of nutrition of young children in Odesa district. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):339–345. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-05

ВСТУП

Основним чинником, який сприяє здоров'ю та гармонійному розвитку дитини, як на ранніх етапах, так і в наступні періоди її життя є раціональне харчування. Забезпечуючи різні рівні молекулярних та метаболічних процесів, воно постачає організм дитини енергією та пластичними матеріалами для формування органів та систем, фізичний та психічний розвиток, стійкість до інфекційних агентів та шкідливого впливу факторів навколишнього середовища [1, 2].

Експерти ВООЗ виділяють основні фактори, що порушують розвиток дитини: недостатнє та надмірне харчування, дефіцит йоду та заліза. Так, у 2013 році, за даними ВООЗ, в усьому світі 161,5 млн дітей віком до п'яти років відставали у зрості, у 50,8 млн дітей було низьке співвідношення маси тіла до зросту, в основному, як наслідок неналежного годування або повторних інфекцій, водночас 41,7 млн дітей мали надмірну масу тіла чи ожиріння [3, 4].

Останніми роками в науковій літературі з'являється все більше досліджень про те, що порушення харчування дитини раннього віку збільшують ризик розвитку різних захворювань у наступні вікові періоди [4–6]. Так, наприклад, неадекватно організоване харчування може призвести до порушень росту та розвитку дитини, стійких змін метаболізму, що зберігаються в подальшому житті. Артеріальна гіпертензія, атеросклеротичні зміни, ожиріння чи цукровий діабет 2-го типу, які значно поширені у дорослій популяції, закладаються в період раннього дитинства та можуть

INTRODUCTION

The main factor that contributes to the health and harmonious development of a child, both in the early stages and in the following periods of his life, is rational nutrition. Providing different levels of molecular and metabolic processes, it supplies the child's body with energy and plastic materials for the formation of organs and systems, physical and mental development, resistance to infectious agents and the harmful effects of environmental factors [1, 2].

WHO experts highlight the main factors that disrupt a child's development: insufficient and excessive nutrition, iodine and iron deficiency. Thus, in 2013, according to the WHO, worldwide 161.5 million children under the age of five were stunted, 50.8 million children had a low ratio of body weight to height, mainly as a result of inadequate feeding or repeated infections, while 41.7 million children were overweight or obese [3, 4].

In recent years, more and more studies have appeared in the scientific literature showing that early childhood nutritional disorders increase the risk of developing various diseases in the following age periods [4–6]. So, for example, inadequately organized nutrition can lead to disorders of the child's growth and development, persistent changes in metabolism that persist in later life. Arterial hypertension, atherosclerotic changes, obesity or type 2 diabetes, which are very common in the adult population, are established in early childhood and can be caused by excessive consumption of protein and salt by children, especially in the first three years of life [6, 7].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

бути зумовлені надмірним споживанням дітьми білка та солі, особливо у перші три роки життя [6, 7].

Встановлено, що не більше як 50% педіатрів та сімейних лікарів обговорюють із батьками питання, пов'язані з харчуванням дітей цієї вікової групи [2]. Діти віком від 1 року, як правило, необґрунтовано рано переводяться на «сімейний» стіл, неадекватний для цього віку, що призводить до формування неправильних харчових звичок, порушень травлення та метаболізму [8].

Порушення режиму харчування – переїдання, високий рівень споживання молочного білка на тлі недостатнього прийому м'ясних продуктів, овочів та фруктів, передчасне використання гастрономічних та кондитерських виробів, продуктів типу «фаст фуд», призводять, з одного боку, до невиправданого збільшення енергетичної цінності раціону, а з іншого – до дефіциту мінеральних речовин та вітамінів у харчуванні, що сприяє формуванню різних відхилень у стані здоров'я дітей і мають регіональні особливості [9]. Розповсюдженність аліментарно-залежних форм патології серед дітей, недостатня обізнаність лікарів та батьків з питань організації раціонального харчування, а також порушення в організації харчування дітей раннього віку зумовлюють актуальність даної роботи та необхідність проведення всебічного аналізу фактичного харчування дітей віком від 1 до 2 років для його подальшого корегування.

Мета роботи – встановити особливості харчування дітей віком від 1 до 2 років життя для оптимізації їх харчових раціонів.

It was established that no more than 50% of pediatricians and family doctors discuss with parents issues related to the nutrition of children of this age group [2]. Children over the age of 1 year, as a rule, are unreasonably early transferred to the «family» food-table, which is inadequate for this age, which leads to the formation of incorrect eating habits, digestive and metabolic disorders [8].

Violation of the diet – overeating, a high level of milk protein consumption against the background of insufficient intake of meat products, vegetables and fruits, premature use of gourmet and confectionery products, «fast food» products, lead, on the one hand, to an unjustified increase in the energy value of the diet, and on the other hand – to the deficiency of minerals and vitamins in food, which contributes to the formation of various deviations in the health of children and have regional characteristics [9]. The prevalence of food-dependent forms of pathology among children, the insufficient awareness of doctors and parents about the organization of rational nutrition, as well as violations in the organization of nutrition of young children determine the relevance of this work and the need for a comprehensive analysis of the actual nutrition of children aged 1 to 2 years for its further updating.

Objective – to establish the nutritional characteristics of children aged from 1 to 2 years in order to optimize their diets.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для отримання фактичного матеріалу використовувався анкетно-опитувальний метод.

Анкета складалася із двох розділів.

У першому розділі був опитувальник, в якому фіксували дані сімейного анамнезу, відомості про вигодовування дитини на першому році життя, враховували фактичне харчування на момент обстеження, особливості харчової поведінки та відомості про перенесені захворювання, у тому числі частоту гострих респіраторно-вірусних та гострих кишкових інфекцій.

У другому розділі був щоденник харчування дитини, який заповнювали батьки. З даного розділу отримували відомості про режим харчування, смакові уподобання дітей. На підставі цих даних досліджувалася поширеність різних проявів порушення харчування. У ході дослідження було застосовано метод 24-годинного (добового) відтворення раціону харчування протягом 3-х днів (2 будні дні та 1 вихідний день) та метод щоденникової реєстрації споживаної їжі (розроблений опитувальник містив дані із відповідними назвами продуктів, страв або груп продуктів).

У дослідженні взяли участь 42 здорових дитини віком від одного до двох років, які проживали в Одеському районі (район 1 – 21 дитина із смт Авангард, район 2 – 21 дитина із с. Нова Долина). Усі діти мали 1 групу здоров'я – здорові діти без морфофункціональних відхилень і хронічної патології. Критеріями включення були: здорові діти віком від 1 до 2 років, отримана згода батьків дитини

MATERIALS AND METHODS

The questionnaire method was used to obtain actual material.

The questionnaire consisted of two sections.

In the first section, there was a questionnaire that recorded data on family history, information on feeding the child in the first year of life, took into account actual nutrition at the time of the examination, peculiarities of eating behavior and information on previous diseases, including the frequency of acute respiratory viral and acute intestinal infections. In the second section, there was a diary of the child's diet, which was filled in by the parents.

From this section, we received information about the diet and taste preferences of children. Based on these data, the prevalence of various manifestations of eating disorders was studied. In the course of the study, the method of 24-hour (daily) reproduction of the diet during 3 days (2 weekdays and 1 day off) and the method of diary registration of consumed food was used (the developed questionnaire contained data with the appropriate names of products, dishes or groups of products).

42 healthy children aged from one to two years who lived in Odesa district took part in the study (district 1 – 21 children from the village of Avangard, district 2 – 21 children from the village of Nova Dolyna). All children had 1 health group – healthy children without morphofunctional abnormalities and chronic pathology. The inclusion criteria were: healthy children aged

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

(матері чи батька) на виконання вимог дослідження і участь дитини у дослідженні, маса тіла дитини при народженні 2500–3500 г, оцінка при народженні за шкалою Apgar 7 і більше.

Для оцінки фактичного харчування визначали: об'єм порцій та добове споживання їжі; добову енергетичну цінність харчування; рівні добового споживання білків, жирів, вуглеводів.

Харчову цінність раціону визначали за допомогою програми Dietplan 6 (Forestfield Software Ltd.), яка дозволяла розраховувати добове споживання основних харчових речовин та нутрієнтів з урахуванням різних факторів (віку, статі, маси тіла, фізичної активності дитини) та містила нормативні значення споживання нутрієнтів та енергетичної цінності їжі. Програма була адаптована з урахуванням нормативів та стандартів харчування, прийнятих в Україні (відповідно до «Норм фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах і енергії», наказ Міністерства охорони здоров'я України № 1073 від 03.09.2017 року).

Отримані дані для кожного з досліджуваних макронутрієнтів інтерпретувалися відповідно до «Норм фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах і енергії» від 2.10.2017 р. [10].

Статистична обробка отриманих даних була проведена з використанням пакета програм Office Excel (2010) та Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Для порівняння незалежних змінних, які не мають нормального розподілу, використовувався критерій Манна–Уітні. Для порівняння дискретних величин, поданих у вигляді частот, використали точний критерій Фішера. Відмінності вважалися статистично значущими при $p < 0,05$.

from 1 to 2 years, the consent of the child's parents (mother or father) to fulfill the requirements of the study and the child's participation in the study, the child's body weight at birth 2500–3500 g, the Apgar score at birth 7 and more.

To assess the actual nutrition, the following were determined: volume of portions and daily food consumption; daily energy value of food; levels of daily consumption of proteins, fats, carbohydrates.

The nutritional value of the diet was determined using the Dietplan 6 program (Forestfield Software Ltd.), which made it possible to calculate the daily consumption of the main food substances and nutrients taking into account various factors (age, sex, body weight, physical activity of the child) and contained normative values of nutrient consumption and energy food values. The program was adapted taking into account the norms and standards of nutrition adopted in Ukraine (in accordance with the «Norms of the physiological needs of the population of Ukraine in basic nutrients and energy» order of the Ministry of Health of Ukraine № 1073 dated September 3, 2017).

The obtained data for each of the investigated macronutrients were interpreted in accordance with the «Norms of physiological needs of the population of Ukraine in basic nutrients and energy» dated October 2, 2017 [10].

Statistical processing of the obtained data was carried out using the Office Excel (2010) and Statistica 12.0 software package (StatSoft Inc., USA). The Mann–Whitney test was used to compare independent variables that do not have a normal distribution. Fisher's exact test was used to compare discrete values presented in the form of frequencies. Differences were considered statistically significant at $p<0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час дослідження виявлено, що індивідуальне харчування, спеціально приготовлене для дитини, старше 1 року, отримували тільки 42,8% – у районі 1, 52,4% – у районі 2. Решта досліджуваних дітей харчувалися із «сімейного» столу.

При оцінці раціону харчування обстежених дітей нами було встановлено, що в більшості дітей у їх раціонах були присутні всі основні продукти харчування у необхідній кількості: м'ясо, риба, молоко та молочні продукти, каші, фрукти та овочі. Водночас споживання дітьми сиру було значно вищим за рекомендовані норми в середньому в 1,5–2 рази, твердого сиру – в 1,5–2,5 рази, фруктових соків – в 1,3–3 рази. Зі слів батьків, вони вважали, що споживання сиру у такій великій кількості необхідне дитині, оскільки сир – це джерело кальцію та фосфору. Значне вживання соків дитиною на думку батьків було корисним, оскільки в них міститься дуже велика кількість вітамінів та мікроелементів.

У раціон усіх обстежених дітей, крім традиційних продуктів домашнього приготування, поступово додавали також продукти, які не призначені їм за віком, а саме напівфабрикати, майонез, кетчуп, гастрономічні вироби, газовані напої, шоколад, обсяг яких у міру зростання дітей значно збільшувався.

RESULTS AND DISCUSSION

During the study, it was found that only 42.8% – in district 1, 52.4% – in district 2 received individual meals specially prepared for a child older than 1 year. The rest of the studied children ate from the «family» food-table.

When evaluating the diet of the examined children, we found that the majority of children had all the basic food products in their diets in the required amount: meat, fish, milk and dairy products, cereals, fruits and vegetables. At the same time, children's consumption of cheese was significantly higher than the recommended norms by an average of 1.5–2 times, hard cheese by 1.5–2.5 times, fruit juices by 1.3–3 times. According to the parents, they believed that the consumption of cheese in such a large quantity is necessary for the child, since cheese is a source of calcium and phosphorus. According to the parents, the significant consumption of juices by the child was useful, because they contain a very large amount of vitamins and microelements.

In the diet of all examined children, in addition to traditional home-cooked products, products that are not intended for them by age were also gradually added, namely semi-finished products, mayonnaise, ketchup, gourmet products, carbonated drinks, chocolate, the amount of which increased significantly as the children grew.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Також нами було виявлено, що функціональні продукти харчування, збагачені есенціальними нутрієнтами, отримували не всі обстежені діти. Так, наприклад, збагачені каші промислового випуску ніколи не використовували в харчуванні 33,3% дітей, які проживали у районі 1 та 38,1% дітей, які проживали у районі 2. Спеціалізовані молочні суміші («треті формули») не отримувала переважна кількість дітей як в районі 1, так і в районі 2, відповідно – 80,9 та 76,1%.

При оцінці режиму харчування також було виявлено певні порушення, а саме: не фіксований час прийому їжі, короткі або навпаки – довгі проміжки між годуваннями, перекушування, або, інколи, нічні прийоми їжі. Дані порушення спостерігалися в 93,5% дітей з обох районів. У близько половини дітей такі порушення режиму харчування були регулярними. Це може свідчити про велику зайнятість батьків та неспроможність належного організування режиму дня включно із режимом харчування та сну дитини.

Добові об'єми їжі відповідали рекомендованим віковим нормам тільки у 31,9% обстежених дітей, недостатній об'єм їжі було виявлено в 16,7%, а більше половини дітей (51,6%) щодня переїдали.

Оцінка фактичного харчування дітей раннього віку разом із аналізом споживання харчових речовин виявила істотну розбалансованість їхнього харчування за макронутрієнтами. Так, 45,2% з усіх обстежених дітей отримували надлишкову кількість білка і жиру, а 75,0% – недоотримували вуглеводи.

Аналіз структури споживання тваринного білка засвідчив, що рекомендовану його кількість (36,4 ± 2,6 г/добу) отримували тільки 30,6% дітей віком від 1 до 2 років. 50,0% дітей другого року життя споживали надлишкову кількість білка (52,2 ± 9,2 г/добу), 19,4% дітей – знижену його кількість (27,3 ± 4,1 г/добу). При цьому раціони хлопчиків містили більшу кількість білка, ніж раціони дівчаток ($p < 0,05$).

Лише 25,0% дітей віком від 1 до 2 років отримували фізіологічну норму кількості жирів. При цьому добове споживання жиру даної категорії дітей становило 40,7 ± 0,3 г/добу. 47,2% дітей від 1 до 2 років споживали надлишкову кількість жиру – (56,6 ± 1,1 г/добу), 27,8% дітей отримували знижену кількість жиру із харчуванням – (30,7 ± 0,7 г/добу). При цьому в районі 1 та районі 2 дівчатка отримували жиру менше, ніж хлопчики ($p < 0,05$).

У результаті дослідження було виявлено, що надмірне споживання жиру дітьми від 1 до 2 років супроводжувалося підвищеним вмістом у раціоні білка на 22,8% і перевищенням його калорійності на 7,6%. При цьому частка вуглеводів була нижчою за норму фізіологічного споживання на 17,4%.

Дисбаланс харчування спостерігався не тільки в дітей зі зміненою кількістю споживання жирів, а також у тих, хто отримував його рекомендовану добову норму. Це виражалося підвищенням білка в раціоні харчування на 10% та зниженням споживання вуглеводів на 30,6%. Структура споживання вуглеводів дітьми різної статі не відрізнялася. Рекомендовану кількість вуглеводів отримували 19,4%, що становило близько 170,8 ± 1,7 г/добу. При цьому більшість дітей (75,0%) від 1 до 2 років отримували недостатню кількість вуглеводів – 114,8 ± 1,9 г/добу.

We also discovered that not all examined children received functional food products enriched with essential nutrients. So, for example, 33.3% of children living in district 1 and 38.1% of children living in district 2 never used enriched industrial cereals in their diet. Specialized milk mixtures («third formulas») were not received by the majority children, as in district 1 and district 2, respectively – 80.9% and 76.1%.

During the evaluation of the diet, certain violations were also revealed, namely: non-fixed meal times, short or, on the contrary, long intervals between feedings, snacking, or, sometimes, night meals. These violations were observed in 93.5% of children from district 1 and district 2. In about half of the children, such violations of the diet were regular. This may indicate that the parents are busy and unable to properly organize the daily routine, including the child's diet and sleep.

Daily amounts of food corresponded to the recommended age norms only in 31.9% of examined children, insufficient amount of food was found in 16.7%, and more than half of children (51.6%) overeat every day.

The assessment of the actual nutrition of young children together with the analysis of the consumption of food substances revealed a significant imbalance in their nutrition in terms of macronutrients. Thus, 45.2% of all examined children received an excess amount of protein and fat, and 75.0% received insufficient carbohydrates.

Analysis of animal protein consumption showed that only 30.6% of children aged 1 to 2 years received the recommended amount (36.4 ± 2.6 g/day). 50.0% of children in the second year of life consumed an excess amount of protein (52.2 ± 9.2 g/day), 19.4% of children consumed a reduced amount (27.3 ± 4.1 g/day). At the same time, the diets of boys contained more protein than the diets of girls ($p < 0.05$).

Only 25.0% of children aged 1 to 2 years received the physiological norm of the amount of fats. At the same time, the daily fat consumption of this category of children was 40.7 ± 0.3 g/day. 47.2% of children from 1 to 2 years consumed an excess amount of fat – (56.6 ± 1.1 g/day), 27.8% of children received a reduced amount of fat with food – (30.7 ± 0.7 g/day day). At the same time, in district 1 and district 2, girls received less fat than boys ($p < 0.05$). As a result of the study, it was found that excessive consumption of fat by children from 1 to 2 years of age was accompanied by an increased content of protein in the diet by 22.8% and an excess of its caloric content by 7.6%. At the same time, the share of carbohydrates was 17.4% lower than the normal physiological intake.

Nutritional imbalance was observed not only in children with a changed amount of fat intake, but also in those who received its recommended daily allowance. This was expressed in a 10% increase in protein in the diet and a 30.6% decrease in carbohydrate consumption. The structure of carbohydrate consumption by children of different sexes did not differ. The recommended amount of carbohydrates was received by 19.4%, which was about 170.8 ± 1.7 g/day. At the same time, the majority of children (75.0%) from 1 to 2 years of age received an insufficient amount of carbohydrates – 114.8 ± 1.9 g/day. 5.6% of children had an excess of

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

У 5,6% дітей відмічався надлишок вуглеводів у харчуванні – 220,6 ± 8,5 г/добу.

Загалом, незалежно від району проживання, споживання вуглеводів хлопчиками було істотно більшим, ніж дівчатками ($p < 0,05$).

carbohydrates in their diet – 220.6 ± 8.5 g/day. In general, regardless of the area of residence, boys' consumption of carbohydrates was significantly higher than girls' ($p < 0.05$).

ВИСНОВКИ

Структура харчування дітей віком від 1 до 2 років характеризується незбалансованістю раціонів за білками, жирами, вуглеводами, яка зумовлена порушеннями режиму годування, переїданням, раннім переходом на «сімейний» стіл.

Діти раннього віку споживають надмірну кількість білка та жиру, в порівнянні з рекомендованими фізіологічними нормами, недостатню кількість вуглеводів відповідно до віку.

Виявлені порушення структури харчування дітей раннього віку, незбалансованість його за макронутрієнтним складом диктують необхідність регулярного контролю з боку педіатрів та сімейних лікарів за організацією харчування дітей даного вікового періоду.

CONCLUSIONS

The nutrition structure of children aged 1 to 2 years is characterized by an imbalance of rations in terms of proteins, fats, and carbohydrates, which is due to violations of the feeding regime, overeating, and early transition to the «family» food-table.

Young children consume an excessive amount of protein and fat compared to the recommended physiological norms, and an insufficient amount of carbohydrates according to their age.

Identified violations of the nutrition structure of young children, its imbalance in terms of macronutrient composition dictate the need for regular control by pediatricians and family doctors of the nutrition organization of children of this age period.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Плакіда О.Л., Вастьянов Р.С., Горошков О.В., Остапчук К.В., Матюшенко П.М. Харчування в сучасних соціально-економічних умовах України як здоров'яформуючий фактор (огляд літератури). *Експериментальна і клінічна медицина.* 2023. № 2(92). С. 7–11. DOI: https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.2.pvh
2. Пишник А.І., Няньковський С.Л. Нутритивне забезпечення дітей дошкільного віку з порушеннями психомоторного розвитку. *Здоров'я дитини.* 2023. № 18(1). С. 27–31. DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.18.1.2023.1555
3. Genovesi S., Giussani M., Orlando A., Orgiu F., Parati G. Salt and sugar: two enemies of healthy blood pressure in children. *Nutrients*. 2021. № 13(2). 697 p. DOI: https://doi.org/10.3390/nu13020697
4. Ludwig D.S., Hu F.B., Tappy L., Brand-Miller J. Dietary carbohydrates: role of quality and quantity in chronic disease. *BMJ.* 2018. № 361. k2340 p. DOI: https://doi.org/10.1136/bmj.k2340
5. Idris S.M. Protein energy malnutrition among children less than five years and the clinical management protocol at Mohammed El Ameen Hamid hospital for children – Sudan-2019. *EAS Journal of Humanities and Cultural Studies.* 2021. № 3(5). P. 206–215.
6. Childs C.E., Calder P.C., Miles E.A. Diet and immune function. *Nutrients.* 2019. № 11(8). 1933 p. DOI: https://doi.org/10.3390/nu11081933
7. Lebron C.N., Atem F., Rana P., Natale R., Messiah S.E. Child Care Center Staff Readiness to Change in an Early Childhood Obesity Prevention Program. *Journal of Public Health Management and Practice.* 2024. № 30(4). P. 526–534. DOI: https://doi.org/10.1097/phh.0000000000001850
8. Осман Н.С., Фролова Т.В., Стенкова Н.Ф., Амаш А.Г. Денситометрічні особливості стану кісткової тканини у дітей в період ростового стрибка з урахуванням поліморфізмів гена VDR та рівнів вітаміну D. *Український радіологічний та онкологічний журнал.* 2022. № 30(1). P. 57–66. DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2022.57-66
9. Няньковський С.Л., Пишник А.І., Куксенко О.В., Грушка О.І. Стан макро- та мікроелементного забезпечення дітей дошкільного віку з порушеннями психомоторного розвитку. Огляд літератури та власні дослідження. *Здоров'я дитини.* 2021. № 16(7). С. 40–47. DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.16.7.2021.244581
10. Про затвердження Норм фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах і енергії: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 02.10.2017 № 1073. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1206-17#Text (дата звернення: 14.09.2022).

REFERENCES

1. Plakida OL, Vastyanov RS, Horoshkov OV, Ostapchuk KV, Matyushenko PM. Nutrition in modern socio-economic conditions of Ukraine as a health-forming factor (literature review). *Experimental and clinical medicine*. 2023;2(92):7–11. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.2.pvh
2. Pyshnyk AI, Nyankovskyi SL. Nutritional provision of preschool children with psychomotor development disorders. *Child's health*. 2023;18(1):27–31. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.18.1.2023.1555
3. Genovesi S, Giussani M, Orlando A, Orgiu F, Parati G. Salt and sugar: two enemies of healthy blood pressure in children. *Nutrients*. 2021;13(2):697. DOI: https://doi.org/10.3390/nu13020697
4. Ludwig DS, Hu FB, Tappy L, Brand–Miller J. Dietary carbohydrates: role of quality and quantity in chronic disease. *BMJ.* 2018;361:k2340. DOI: https://doi.org/10.1136/bmj.k2340
5. Idris SM. Protein energy malnutrition among children less than five years and the clinical management protocol at Mohammed El Ameen Hamid hospital for children – Sudan-2019. *EAS Journal of Humanities and Cultural Studies.* 2021;3(5):206–15.
6. Childs CE, Calder PC, Miles EA. Diet and immune function. *Nutrients*. 2019;11(8):1933. DOI: https://doi.org/10.3390/nu11081933
7. Lebron CN, Atem F, Rana P, Natale R, Messiah SE. Child Care Center Staff Readiness to Change in an Early Childhood Obesity Prevention Program. *Journal of Public Health Management and Practice.* 2024;30(4):526–34. DOI: https://doi.org/10.1097/phh.0000000000001850
8. Osman NS, Frolova TV, Stenkova NF, Amash AH. Densitometric features of bone tissue in children during the growth spurt considering the VDR gene polymorphisms and vitamin D level. *Ukrainian journal of radiology and oncology.* 2022;30(1):57–66. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2022.57-66
9. Nyankovsky SL, Pishnyk AI, Kuksenko OV, Hrushka OI. State of macro- and micronutrient provision of preschool children with psychomotor development disorders. Literature review and own research. *Child's health.* 2021;16(7):40–7. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0551.16.7.2021.244581
10. On the approval of the norms of the physiological needs of the population of Ukraine in basic food substances and energy: Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 02.10.2017 № 1073. (In Ukrainian). URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1206-17#Text (date of application: 09/14/2022).

Перспективи подальших досліджень

Визначити рівні споживання мікронутрієнтів дітьми раннього віку; оцінити фізичний розвиток дітей даного віку та вплив на нього факторів харчування; розробити комплекс заходів,

Prospects for further research

Determine the levels of consumption of micronutrients by young children; to assess the physical development of children of a given age and the influence of nutritional factors on it;

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

у тому числі організаційних, щодо оптимізації харчування дітей раннього віку. Виявлені порушення структури харчування дітей раннього віку, незбалансованість його за макронутрієнтним складом диктують необхідність регулярного контролю з боку педіатрів та сімейних лікарів за організацією харчування дітей даного вікового періоду.

to develop a set of measures, including organizational measures, to optimize the nutrition of young children. Identified violations of the nutrition structure of young children, its imbalance in terms of macronutrient composition dictate the need for regular control by pediatricians and family doctors over the organization of nutrition for children of this age period.

Конфлікт інтересів / Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи.

The authors of the manuscript declare that they have no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work.

Інформація про фінансування / Funding information

Фінансування приватними особами.

Financing by private individuals.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ / INFORMATION ABOUT AUTHORS

Сопель Ольга Миколаївна – кандидат медичних наук, доцент кафедри загальної гігієни та екології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України; майдан Волі, буд. 1, м. Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: sopel@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (067) 392-23-20
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, формулювання мети роботи, аналіз отриманих даних, редагування статті.*

Денефіль Ольга Володимирівна – доктор медичних наук, професор кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України; майдан Волі, буд. 1, м. Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: denefil@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (097) 853-69-18
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, аналіз отриманих даних, остаточне затвердження статті.*

Sopel Olha Mykolaivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Department of General Hygiene and Ecology of Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 1 Maidan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail:sopel@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (067) 392-23-20
Author's contribution: *research concept and design, formulation of the purpose of the work, data analysis, critical revision of the article.*

Denefil Olha Volodymyrivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, leader of Pathophysiology Department of Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 1 Maidan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail: denefil@tdmu.edu.ua
tel.: +38 (050) 853-69-18
Author's contribution: *the selection of literary sources according to the topic of the work, analysis of the obtained data, final approval of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received*	Отримано після рецензування *Received after review*	Прийнято до друку *Accepted for printing*	Опубліковано *Published*
18.06.2024	20.08.2024	02.09.2024	30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 346–357
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):346–357

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-06
УДК: 616.336-003.7-06:616.333-008.6

Цілеспрямоване ультразвукове дослідження огранів черевної порожнини у пацієнтів з жовчно-кам'яною та з супутньою злуковою хворобами як метод попередження інтраопераційних ускладнень при виконанні лапароскопічної холецистектомії

Цівенко О.І., https://orcid.org/0000-0003-0839-9768, e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua
Бичков С.О., https://orcid.org/0000-0001-5413-3536, e-mail: sergey.o.bychkov@karazin.ua
Гриньов Р.М., https://orcid.org/0000-0001-6527-4238, e-mail: roman.m.grinjov@karazin.ua
Душик Л.М., https://orcid.org/0000-0002-8330-7221, e-mail: dushiklyudmila@gmail.com

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

Targeted ultrasound examination of the edges of the abdominal cavity in patients with gallstones and concomitant bile duct diseases as a method of preventing intraoperative complications during laparoscopic cholecystectomy

Tsivenko O.I., https://orcid.org/0000-0003-0839-9768, e-mail: Olexiy.i.tsivenko@karazin.ua
Bychkov S.O., https://orcid.org/0000-0001-5413-3536, e-mail: sergey.o.bychkov@karazin.ua
Hrynyov R.M., https://orcid.org/0000-0001-6527-4238, e-mail: roman.m.grinjov@karazin.ua
Dushyk L.M., https://orcid.org/0000-0002-8330-7221, e-mail: dushiklyudmila@gmail.com

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

Ключові слова:

жовчно-кам'яна хвороба, злукова хвороба черевної порожнини, ультразвукове дослідження, адгезіоліз, інтраопераційні ускладнення.

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., Бичков С.О., Гриньов Р.М., Душик Л.М., 2024*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Статистичі дані останніх трьох десятиріч свідчать про домінуючі позиції жовчно-кам'яної хвороби (ЖКХ) серед всієї гастроентерологічної патології, яка потребує хірургічного лікування. На жаль, незважаючи на широке впровадження малоінвазивних, ендоскопічних методів хірургічного лікування ЖКХ в усьому світі фіксується збільшення кількості інтра- та післяопераційних ускладнень й незадовільних результатів оперативного лікування, особливо при гострих формах запалення і наявності інших ускладнюючих факторів. До категорії підвищеного ризику збереження больового синдрому, абдомінального дискомфорту та розвитку інтра- й післяопераційних ускладнень належать пацієнти, які в минулому перенесли хірургічні втручання на органах черевної порожнини, що зумовлює розвиток злукової хвороби. Це потребує дотримання особливої тактики ініціації, проведення та завершення лапароскопічної холецистектомії (ЛХЕ). Сучасний протокол інструментальної діагностики злукової хвороби і головне злукової кишкової непрохідності включає: ультразвукове дослідження (УЗД) органів черевної порожнини (ОЧП), оглядове й контрастне рентгенологічне дослідження ОЧП, комп'ютерну та магнітно-резонансну томографію (КТ, МРТ відповідно). Однак до теперішнього часу залишаються «відкритими» питання щодо діагностики й малоінвазивного лікування. Вирішення даних питань, дадуть можливість покращити результати лікування пацієнтів з ЖКХ.

Мета дослідження – вивчити й обгрунтувати необхідність проведення цілеспрямованого ультразвукового дослідження черевної порожнини у передопераційному періоді, як ефективного методу візуалізації злукового процесу та профілактики інтра- й післяопераційних ускладнень у пацієнтів із супутньою злуковою хворобою черевної порожнини.

Матеріали та методи. В роботі представлено аналіз результатів хірургічного лікування 11549 пацієнтів з приводу різних форм ЖКХ. Пацієнтам була проведена стандартна передопераційна діагностична програма та виконана ЛХЕ. У 2736 хворих, які раніше перенесли оперативні втручання на органах черевної порожнини, виконано ЛХЕ і, за показаннями, різні симультанні операції,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

що становить 23,69% від загальної кількості ЛХЕ. Жінок було 2209, чоловіків 527. Вік хворих коливався від 16 до 78 років.

Серед 2736 хворих, які мали в анамнезі операції на органах черевної порожнини, тільки у 343 (12,54%) пацієнтів у передопераційному періоді були встановлені показання для проведення симультанної операції адгезіолізу. У 172 (6,29%) пацієнтів вона була остаточно діагностована інтраопераційно на доопераційному етапі визначалася висока сонографічна вірогідність злукового процесу (ЗП) і проведення адгезіолізу було етапом оперативного втручання, необхідність якого обгрунтована введенням портів, виконання адекватної ревізії та візуалізації для забезпечення умов проведення ЛХЕ. Усього адгезіоліз було зроблено у 515 (18,83%) хворих.

Доопераційна діагностична програма включала: проведення клінічних та біохімічних досліджень крові та сечі, електрокардіографію (ЕКГ), рентгенографію або рентгеноскопію органів грудної та черевної порожнин з контрастуванням та без за показанням відповідно, таргетне УЗД ОЧП за розробленою методикою, за показаннями КТ та МРТ ОЧП. УЗД ОЧП проводили апаратами експертного класу Sonoace 4800 фірм «Medison», Toshiba Nemio і Philips HDI 4000, у режимі реального часу. Використовували лінійні, секторальні й конвексні датчики з частотою від 2 до 5 МГц, а також допплерівські і енергетичні датчики.

ЛХЕ виконувалася за загальноприйнятою методикою, для проведення адгезіолізу застостовували ножиці, біполярну коагуляцію та ультразвукову дисекцію/коагуляцію.

Результати та їх обговорення. При визначенні ймовірності наявності злук у черевній порожнині враховували дані анамнезу, клінічну картину, характер та локалізацію післяопераційних рубців на черевній стінці, результати УЗД ОЧП. Клінічний перебіг ЗХ характеризувався різного ступеня інтенсивністю та тривалістю, постійними або періодичними ниючими болями в животі, інколи вони приймали переймоподібний характер, що в більшості випадків пацієнти пов'язували з харчуванням – характером і об'ємом вжитої їжі й були, переважно, без чіткої локалізації, але міняли свій характер при зміні положення тіла, супроводжувались періодичним здуттям живота, чередуванням діареї та закрепів, але в переважній більшості пацієнти відмічали в період загострення затримку відходження газів і калу. У зв'зку з цими скаргами та особливостями клінічних проявів не зовсім характерних для ЖКХ і наявністю в анамнезі патогенетичних чинників для розвитку злукового поцесу у черевній порожнині з характерними клінічними проявами нами були розроблені та проаналізовані прийоми та сонографічні ознаки, які об'єктивно вказують на наявність, поширеність та тяжкість порушень у моторній функції й, відповідно, фізіології ШКТ, які повязані з наявністю ЗХЧП.

Грунтуючись на результатах доопераційного обстеження ЗП не був діагностований у 6 (1,75%) хворих з групи, яким було проведено адгезіоліз, але він був прогнозованою операційною знахідкою, що стало показанням для виконання симультанної операції. Ці зрощення були поодинокими, локальними, не мали поширеності та їх довжина коливалась в межах 10 мм., що пояснює відсутність візуалізації злук при проведенні УЗД ОЧП і в більшості випадків практично відсутність скарг, характерних для ЗХЧП.

Незалежно від локалізації у черевній порожнині злуки мали практично однакову ехографічну картину, характер якої визначався ступенем виразності інфільтративних і рубцевих змін, наявністю потовщення та зміною щільності парієтальної та вісцеральної очеревини, які мали осередковий характер різної поширеності. Ці ознаки були діагностовані у всіх пацієнтів, у яких встановлено діагноз звукова хвороба (ЗХ) ОЧП на доопераційному етапі. Ультразвукова семіотика ЗХ розподілялась таким чином: у 123 (47,12%) хворих злуки локалізувалися як ехопозитивні включення витягнутої (лінійної або овальної) форми або у вигляді дрібноточкових утворень. На ехограмах у 31 (11,87%) хворого множинні злуки зливалися або поєднувались між собою з формуванням невеликих глибчастих конгломератів неправильної овальної або округлої конфігурації. У 21 хворого (8,02%) злуковий процес був представлений ехопозитивним неоднорідним тяжем. Поєднання рубцевих змін різної форми виявлено у 31 (11,87%) хворого. Загалом позитивний ехосимптом «пружини» виявлено у 93 (35,63%), позитивний ехосимптом «куліси» у 46 (17,62%) пацієнтів.

Зазначено, що злуки залежно від локалізації мають особливості, а саме в нижніх відділах черевної порожнини лінійну та дрібноточкову форму, а у верхніх та середніх відділах частіше видно глибчасті включення або рубцеві зміни у вигляді ехопозитивного неоднорідного тяжа. За наявності лінійних та овальних спайок довжина їх значно перевищує поперечник і коливається від 5 до 15 мм. Діаметр дрібноточкових включень коливається від 3 до 10 мм. Розміри глибчастих утворень та ехопозитивних неоднорідних тяжів рубцевої природи були більше 15 мм у діаметрі. Ехощільність рубцевих змін висока або дуже висока, іноді з формуванням акустичної тіні в дистальному напрямку (ззаду злук). Встановлено, що зміни перистальтики, внутрішнього контуру кишки, наявність деформації, ступеня дилятації й порушення пасажу кишкового вмісту є прямими та непрямими ознаками ЗХ.

У хворих, які мали в анамнезі перенесені оперативні втручання на ОЧП, враховували особливості клінічного перебігу захворювання з метою виявлення

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

порушень пасажу кишкового вмісту по ШКТ, патологію, з приводу якої пацієнт був раніше оперований з акцентом на перебіг післяопераційного періоду, характер і локалізацію післяопераційних рубців, й головне дані, отримані при проведенні за розробленою методикою, таргетного ультразвукового дослідження ОЧП для визначення місця пункції ЧП голкою Вереша і введення першого троакара.
Висновки. В результаті проведеного дослідження встановлено, що злукова хвороба органів черевної порожнини, має специфічну семіотику і може суттєво впливати на перебіг жовчно-кам'яної хвороби, та в залежності від поширеності, виразності сполучнотканинного компонента й порушень моторики кишечника зумовлювати високі ризики розвитку інтра- та післяопераційних ускладнень.
Частота і поширеність злукового процесу в оперованих хворих знаходяться в прямій залежності від кількості лапаротомних утручань, виду, розмірів і локалізації лапаротомного доступу, об'єму оперативного втручання і характеру патології, з приводу якої проводилося втручання, виду дренування ЧП і його тривалості, особливостей перебігу післяопераційного періоду і наявності й характеру післяопераційних ускладнень.
Отримані дані свідчать про високу діагностичну цінність цілеспрямованого УЗД при візуалізації зрощень й дають можливість верифікувати локалізацію, поширеність і особливості злукового процесу в черевній порожнині та виявити ранні ознаки гострої злукової кишкової непрохідності.
Таргетне УЗД ОЧП з метою діагностики ЗХ ОЧП за розробленим алгоритмом, на відміну від рентгенологічного обстеження, дозволяє у більш короткі строки та майже зі 100% точністю встановити деталізований діагноз на доопераційному етапі. Визначити місця безпечного введення троакарів та запобігти розвитку інтра- й післяопераційних ускладнень.

Для цитування:

Цівенко О.І., Бичков С.О., Гриньов Р.М., Душик Л.М. Цілеспрямоване ультразвукове дослідження ограніев черевної порожнини у пацієнтів з жовчно-кам'яною та з супутньою злуковою хворобами як метод попередження інтраопераційних ускладнень при виконанні лапароскопічної холецистектомії. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 346–357. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-06

Key words:

gallstone disease, adhesive disease of the abdominal cavity, ultrasound examination, adhesiolysis, intraoperative complications.

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 O.I., Bychkov S.O., Hrynyov R.M., Dushyk L.M., 2024*

ABSTRACT

Background. Statistical data from the last three decades indicate that gallstone disease (GSD) occupies a dominant position among all gastroenterological pathologies requiring surgical intervention. Despite the widespread implementation of modern minimally invasive surgical techniques, the increase in the number of operations for this condition has been accompanied by a rise in intra- and postoperative complications and unsatisfactory treatment outcomes. Patients with a history of previous abdominal surgeries, leading to the development of adhesions, are at higher risk of persistent pain syndrome, abdominal discomfort, and intra- and postoperative complications. This necessitates a very cautious approach to the initiation, execution, and conclusion of laparoscopic cholecystectomy.
The current protocol for instrumental diagnosis of adhesion disease and especially adhesive bowel obstruction includes: abdominal ultrasound (US), plain and contrast-enhanced radiography of the abdomen, and computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI), respectively. The development and implementation of an accessible program addressing these issues based on evidence-based medicine principles will improve treatment outcomes for this patient group.
Purpose. The objective of this study is to investigate and substantiate the necessity of targeted abdominal ultrasound in the preoperative period as an effective method for visualizing adhesive processes and preventing intraoperative and postoperative complications in patients with concurrent intra-abdominal adhesions (IAA).
Materials and methods. This study presents An analysis of surgical treatment outcomes was conducted for 11.549 patients with various forms of gallstone disease (GSD). Among these, 2.736 patients with a history of previous abdominal surgeries underwent LC along with various simultaneous procedures, accounting for 23.69% of all LCs performed. The cohort included 2.209 women and 527 men, with ages ranging from 16 to 78 years.
Among the 2.736 patients with a history of abdominal surgeries, only 343 (12.54%) were diagnosed with intra-abdominal adhesions (IAA) during preoperative evaluation, necessitating simultaneous adhesiolysis. In 172 (6.29%) patients, IAA was definitively diagnosed intraoperatively (with high sonographic probability of adhesions preoperatively), and adhesiolysis was required to facilitate port placement, adequate revision, and visualization necessary for performing LC. Overall, adhesiolysis was performed in 515 (18.83%) patients.
Preoperative Diagnostic Program: The preoperative diagnostic program included clinical and biochemical tests of blood and urine, electrocardiography (ECG), chest

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

and abdominal radiography or fluoroscopy with and without contrast as indicated, targeted abdominal ultrasound (US) following a developed methodology, and, as needed, computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) of the abdomen. Abdominal ultrasound was performed using Sonoace 4800 devices from Medison, Toshiba Nemio, and Philips HDI 4000 in real-time mode. Linear, sector, and convex transducers with frequencies ranging from 2 to 5 MHz, as well as Doppler and energy transducers, were employed.

Surgical Procedure: Laparoscopic cholecystectomy (LC) was carried out using standard techniques. During adhesion lysis, scissors, bipolar coagulation, and ultrasonic dissection/coagulation were used.

Results. When assessing the likelihood of adhesions in the abdominal cavity, factors considered included patient history, clinical presentation, the nature and location of postoperative scars, and results from abdominal ultrasound (US). The clinical presentation of adhesion disease varied in intensity and duration, with patients experiencing either constant or intermittent aching abdominal pain. Occasionally, the pain assumed cramp-like characteristics, often linked to the type and quantity of ingested food, and was typically diffuse, though it could change with body position. Symptoms were accompanied by periodic abdominal bloating, unstable stool, and, in most cases, patients reported delayed gas and stool passage during exacerbations. These manifestations were alleviated by dietary adjustments or the use of antispasmodics. Thus, in most cases, the clinical course aligned with forms predominantly featuring pain syndrome or gastrointestinal discomfort, resembling perivesiculitis.

Given these complaints and the specific clinical manifestations, which were not entirely characteristic of GSD and considering the presence of pathogenic factors for the development of adhesion processes in the abdominal cavity, we developed and analyzed methods and sonographic signs that objectively indicate the presence, extent, and severity of motor function disturbances and, consequently, gastrointestinal physiology associated with adhesive bowel obstruction (ABO).

Based on preoperative examination, adhesion disease was not diagnosed in 6 (1.75%) patients, and it emerged as a predicted intraoperative finding, which indicated the need for simultaneous adhesion lysis. These adhesions were isolated, localized, with lengths ranging from 10 mm, explaining their non-visualization on abdominal US and the generally absence of symptoms typical of ABO in these cases.

Regardless of their location within the abdominal cavity, adhesions exhibited a nearly identical echographic pattern. This pattern was characterized by the degree of infiltrative and scar changes, as well as the thickening and alteration in the density of the parietal and visceral peritoneum, which exhibited focal lesions of varying extent. These characteristics were diagnosed in all patients with preoperative adhesive bowel obstruction (ABO).

The ultrasound semiotics of adhesions were distributed as follows: 123 (47.12%) patients had adhesions localized as echopositive inclusions in elongated (linear or oval) forms or as fine, point-like formations. In 31 (11.87%) patients, multiple adhesions fused or combined to form small, deep conglomerates with irregular oval or round configurations. In 21 patients (8.02%), the adhesive process was represented by an echopositive, heterogeneous band. Scarring of various forms was identified in 31 (11.87%) patients. Overall, the positive echographic sign of «spring» was found in 93 (35.63%) patients, and the positive echographic sign of «curtain» was found in 46 (17.62%) patients.

It was noted that adhesions have distinct features depending on their location: in the lower abdominal regions, they appeared as linear and fine-point forms, while in the upper and middle regions, deep inclusions or scar changes in the form of echopositive, heterogeneous bands were more common. Linear and oval adhesions typically exceeded their transverse diameter, ranging from 5 to 15 mm. The diameter of fine-point inclusions ranged from 3 to 10 mm. Deep formations and echopositive, heterogeneous bands of scar tissue were more than 15 mm in diameter. The echogenicity of scar changes was high or very high, sometimes with the formation of acoustic shadowing distally (behind the adhesions). Changes in peristalsis, internal contour of the bowel, presence of deformation, degree of dilation, and passage disruption of bowel contents were identified as direct and indirect signs of ABO.

In previously operated patients, particular attention was given to the clinical manifestations of the disease to detect bowel passage disturbances, the pathology for which the patient was previously operated on, with a focus on the postoperative course, the nature and location of postoperative scars, and, crucially, the data obtained from targeted abdominal ultrasound according to the developed methodology to determine the location for Veress needle insertion and placement of the first trocar.

Conclusions. Adhesive Disease of the Abdominal Organs: Adhesive disease, with its specific semiotics, can significantly affect the course of gallstone disease. Depending on the extent, intensity of the connective tissue component, and disturbances in bowel motility, it can result in a high risk of intraoperative and postoperative complications.

Frequency and Extent of Adhesion Formation: The frequency and extent of adhesive processes in operated patients are directly related to the number of laparotomy procedures, the type, size, and location of the laparotomy access, the volume of the surgical intervention, the nature of the pathology being treated, the type and

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

duration of abdominal drainage, the specifics of the postoperative course, and the presence and nature of postoperative complications.
Diagnostic Value of Targeted Ultrasound: The data obtained highlight the high diagnostic value of targeted ultrasound for visualizing adhesions. This approach allows for the verification of the location, extent, and characteristics of the adhesive process in the abdominal cavity and helps identify early signs of acute adhesive bowel obstruction.
Comparison with Radiological Examination: Targeted abdominal ultrasound, when used according to the developed algorithm, provides a detailed diagnosis with nearly 100% accuracy in a shorter time compared to radiological examination. It helps determine safe trocar insertion sites and prevents intraoperative and postoperative complications.

For citation:

Tsivenko OI, Bychkov SO, Hrynyov RM, Dushyk LM. Targeted ultrasound examination of the edges of the abdominal cavity in patients with gallstones and concomitant bile duct diseases as a method of preventing intraoperative complications during laparoscopic cholecystectomy. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):346–357. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-06

ВСТУП

Статистичні дані останніх трьох десятиріч свідчать про домінуючі позиції жовчно-кам'яної хвороби (ЖКХ) серед всієї гастроентерологічної патології, що потребує хірургічного лікування. Перш за все, цей факт пояснюється сучасними нутритивними особливостями та багатофакторним несприятливим впливом оточуючого середовища на людину. Згідно з національними та європейськими даними 15–20% дорослого населення страждає на цю патологію. В середньому щорічне звернення з приводу ЖКХ складає близько 1 млн осіб на рік. На сьогоднішній день холецистектомія (ХЕ) є найчастішою операцією, а кількість щорічно виконуваних втручань перевищує 500 тис. [1–3, 7, 8]. Безумовно революційним етапом в еволюції біліарної хірургії стала розробка й широке впровадження в хірургічну практику щадних, малоінвазивних утручань, особливо лапароскопічної холецистектомії (ЛХЕ), яка за загальним визнанням сьогодні вважається «золотим стандартом» хірургічного лікування ЖКХ. На жаль, незважаючи на широке впровадження малоінвазивних, ендоскопічних методів хірургічного лікування ЖКХ збільшується кількість інтра- та післяопераційних ускладнень й кількість незадовільних результатів лікування.

Одним із несприятливих факторів є супутня абдомінальна патологія, а саме злукова хвороба черевної порожнини (ЗХЧП). ЗХЧП та її ускладнення, незважаючи на досягнення сучасної клінічної хірургії, залишаються актуальною проблемою сьогодення. Актуальність проблеми, перш за все, зумовлена повсюдним зростанням планових та ургентних оперативних утручань на органах черевної порожнини, а поступовий перехід сучасної абдомінальної хірургії до менш інвазивних лапароскопічних втручань достеменно не вирішив питання розвитку ЗХЧП та гострої злукової кишкової непрохідності (ГЗКН) [2, 3, 5, 10, 11]. Так, в Україні протягом останніх десятиліть частота ГЗКН збільшилася в 2 рази і немає тенденції до зниження [1, 2, 4, 5, 9]. Поодинокі та переважно суперечливі посилання щодо щадної хірургічної техніки оперативних втручань, застосування лапароскопічних методик та місцевих антиадгезивних бар'єрних методів свідчать про намагання вітчизняних та зарубіжних авторів знизити частоту розвитку ЗХЧП

INTRODUCTION

Data from the past three decades indicate the dominant position of cholelithiasis (gallstone disease) among all gastroenterological conditions requiring surgical intervention. This prominence is primarily attributed to contemporary nutritional characteristics and the multifactorial adverse effects of the environment on human health. According to national and European data, 15–20% of the adult population suffers from this condition. On average, approximately 1 million cases of cholelithiasis are reported annually. Currently, cholecystectomy (CE) is the most commonly performed surgical procedure, with over 500.000 interventions conducted each year [1–3, 7, 8]. A revolutionary development in biliary surgery has been the advancement and widespread adoption of minimally invasive techniques, particularly laparoscopic cholecystectomy (LC), which is now considered the «gold standard» for surgical treatment of this condition. Unfortunately, the increasing number of procedures has been accompanied by a proportional rise in intraoperative and postoperative complications, as well as a number of unsatisfactory treatment outcomes.

One of the adverse factors is concurrent abdominal pathology, specifically intra-abdominal adhesions (IAA). Despite advancements in modern clinical surgery, IAA and its complications remain a significant issue today. The relevance of this problem is primarily due to the widespread increase in both elective and urgent abdominal surgical interventions. Although the gradual shift in modern abdominal surgery towards less invasive laparoscopic procedures has not definitively resolved the issue of IAA and acute adhesive bowel obstruction (AABO) [2, 3, 5, 10, 11]. In Ukraine, over recent decades, the incidence of AABO has doubled, with no signs of decreasing [1, 2, 4, 5, 9]. Limited and often contradictory references regarding gentle surgical techniques, the use of laparoscopic methods, and local anti-adhesive barrier techniques indicate efforts by both domestic and international authors to reduce the incidence of IAA [2, 3, 5, 7, 8, 10, 11].

Patients with a history of previous abdominal surgeries, which predispose them to the development of adhesive disease, are at increased risk for persistent pain, abdominal discomfort, and intraoperative and postoperative complications. This necessitates a cautious

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

[2, 3, 5, 7, 8, 10, 11]. До категорії підвищеного ризику збереження больового синдрому, абдомінального дискомфорту та розвитку інтра- й післяопераційних ускладнень відносяться пацієнти, які в минулому перенесли хірургічні втручання на органах черевної порожнини, що зумовлює розвиток злукової хвороби. Це потребує дотримання дуже обережної такти ініціації, проведення та завершення лапароскопічної холецистектомії.

Сучасний протокол інструментальної діагностики злукової хвороби і голове злукової кишкової непрохідності включає: ультразвукове дослідження (УЗД) органів черевної порожнини (ОЧП), оглядове й контрастне рентгенологічне дослідження ОЧП, комп'ютерну та магнітно-резонансну томографію (КТ, МРТ відповідно). Однак до теперішнього часу залишаються не вирішеними питання щодо діагностики, лікування та особливо профілактики ЗХЧП [1, 5, 6, 8–10]. Розробка та впровадження загальнодоступної програми з вирішення даних питань, заснованої на засадах доказової медицини, дозволить покращити результати лікування цієї категорії хворих.

Мета роботи – вивчити й обгрунтувати необхідність проведення цілеспрямованого ультразвукового дослідження черевної порожнини у передопераційному періоді, як ефективного методу візуалізації злукового процесу та профілактики інтра- й післяопераційних ускладнень у пацієнтів із супутньою злуковою хворобою черевної порожнини.

approach to the initiation, execution, and completion of laparoscopic cholecystectomy.

The current protocol for the instrumental diagnosis of adhesive disease and acute adhesive bowel obstruction includes: ultrasound of the abdominal organs, plain and contrast X-ray studies of the abdomen, computed tomography (CT), and magnetic resonance imaging (MRI), respectively. However, unresolved issues remain regarding the diagnosis, treatment, and especially the prevention of IAA [1, 5, 6, 8–10]. Developing and implementing a comprehensive, evidence-based program to address these issues will improve treatment outcomes for this patient population.

The objective of this study is to investigate and substantiate the necessity of targeted abdominal ultrasound in the preoperative period as an effective method for visualizing adhesive processes and preventing intraoperative and postoperative complications in patients with concurrent intra-abdominal adhesions (IAA).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено аналіз результатів хірургічного лікування 11549 пацієнтів з приводу різних форм ЖКХ у клініці хірургічних хвороб Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна з квітня 1994 по грудень 2022 року. Всім хворим була виконана ЛХЕ, як метод хірургічного лікування основного захворювання. У 2736 хворих, які раніше перенесли оперативні втручання на органах черевної порожнини, виконано ЛХЕ і різні симультанні операції, що становить 23,69% від загальної кількості ЛХЕ. З них двічі оперовано 283 хворих і тричі – 51. Жінок було 2209, чоловіків – 527. Вік хворих коливався від 16 до 78 років.

Серед 2736 хворих, які мали в анамнезі операції на органах черевної порожнини, тільки у 343 (12,54%) пацієнтів на етапі передоперційної діагностики була діагностована ЗХЧП, що потребувало проведення симультанної операції адгезіолізу. Тобто, у них були встановлені клінічні прояви ЗХЧП на етапі передопераційної діагностики, відповідно це формулювалося як супутня патологія, яка передбачала хірургічну корекцію при проведенні оперативного втручання. У 172 (6,29%) пацієнтів вона була остаточно діагностована інтраопераційно (на доопераційному етапі визначалася висока сонографічна вірогідність ЗП) і виконання адгезіолізу було необхідним для введення портів, адекватної ревізії та візуалізації для забезпечення умов виконання ЛХЕ. Загалом адгезіоліз було проведено у 515 (18,83%) хворих.

Визначення показань до виконання лапароскопічних утручань у хворих, які мали в анамнезі операції на органах черевної порожнини, потребували точної

MATERIALS AND METHODS

An analysis of surgical treatment outcomes was conducted for 11.549 patients with various forms of gallstone disease (GSD) at the Department of Surgical Diseases, V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, from April 1994 to December 2022. All patients underwent laparoscopic cholecystectomy (LC) as the surgical treatment for their primary condition. Among these, 2.736 patients with a history of previous abdominal surgeries underwent LC along with various simultaneous procedures, accounting for 23.69% of all LCs performed. Of these, 283 patients were operated on twice, and 51 patients were operated on three times. The cohort included 2.209 women and 527 men, with ages ranging from 16 to 78 years.

Among the 2.736 patients with a history of abdominal surgeries, only 343 (12.54%) were diagnosed with intra-abdominal adhesions (IAA) during preoperative evaluation, necessitating simultaneous adhesiolysis. These patients exhibited clinical signs of IAA at the preoperative stage, which was identified as a concomitant condition requiring surgical correction during the intervention. In 172 (6.29%) patients, IAA was definitively diagnosed intraoperatively (with high sonographic probability of adhesions preoperatively), and adhesiolysis was required to facilitate port placement, adequate revision, and visualization necessary for performing LC. Overall, adhesiolysis was performed in 515 (18.83%) patients.

The indications for laparoscopic interventions in patients with a history of abdominal surgeries required

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

діагностики вісцеро-парієтальних та вісцеро-вісцеральних злук. Тому нами були вивчені діагностичні можливості ультразвукового дослідження ОЧП з метою діагностування, визначення поширеності та тяжкості злукового процесу у ЧП. Даний метод було обрано у зв'язку з його інформативністю, доступністю, безпечністю, відсутністю необхідності проведення спеціальної підготовки пацієнтів та можливістю застосування на всіх етапах діагностичного та лікувального процесів. УЗД ОЧП проводили з використанням апаратів Sonoace 4800 фірм «Medison», Toshiba Nemio і Philips HDI 4000, в режимі реального часу. Використовували лінійні, секторальні й конвексні датчики з частотою від 2 до 5 МГц, а також допплерівські і енергетичні режими.

ЛХЕ виконувалася за загальноприйнятою методикою, для проведення адгезіолізу ми використовували ножиці, біполярну коагуляцію та ультразвукову дисекцію коагуляцію. Електрохірургічний блок працював у монополярному режимі. Частота струму складала 440 ± 10 кГц, максимальна вихідна потужність складала на номінальному навантаженні 500 Ом у режимі розсічення 220 ± 40 Вт, у режимі монополярної коагуляції 100 ± 28 Вт. Під час операцій ультразвуковий скальпель (УЗС) працював у двох режимах: «коагуляції» та «розсічення». Частота коливань робочої частини 55,5 кГц, амплітуда руху леза від 50 до 100 мкм.

precise diagnostics of viscero-parietal and viscero-visceral adhesions. Therefore, we evaluated the diagnostic capabilities of abdominal ultrasound to assess the prevalence and severity of the adhesive process. This method was chosen due to its informativeness, accessibility, safety, lack of need for special patient preparation, and applicability throughout the diagnostic and therapeutic process. Abdominal ultrasound was performed using Sonoace 4800 devices from Medison, Toshiba Nemio, and Philips HDI 4000, in real-time mode. Linear, sectoral, and convex probes with frequencies ranging from 2 to 5 MHz were used, along with Doppler and energy modes.

LC was performed using standard techniques, while adhesiolysis involved the use of scissors, bipolar coagulation, and ultrasonic dissection/coagulation. The electrosurgical unit operated in monopolar mode, with a current frequency of 440 ± 10 kHz, and maximum output power at a nominal load of 500 ohms was 220 ± 40 W in cutting mode and 100 ± 28 W in monopolar coagulation mode. During the operations, the ultrasonic scalpel (US) was used in two modes: «coagulation» and «cutting», with a working frequency of 55.5 kHz and blade amplitude ranging from 50 to 100 μm.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З метою встановлення наявності злук у ЧП враховували дані анамнезу, а саме: особливості скарг, які можуть свідчити при злуковий процес та їх клінічну еволюцію, характер та локалізацію післяопераційних рубців, результати інструментальних методів обстеження, що дають можливість візуалізувати зрощення у черевній порожнині (УЗД, рентгенологічне обстеження оглядова та контрастно підсилена рентгенографія й рентгеноскопія, КТ і МРТ ОЧП за показаннями). Враховуючи мету дослідження найбільшу зацікавленість становили дані УЗД ОЧП. Клінічна картина злукової хвороби виявлялася різного ступеня інтенсивності та тривалості, постійними або періодичними ниючими болями в животі, інколи вони приймали переймоподібний характер, що в більшості випадків пацієнти пов'язували з характером і об'ємом вжитої їжі, й були переважно без чіткої локалізації, але змінювали свій характер при зміні положення тіла, супроводжувались періодичним здуттям живота і чередуванням діареї та закрепів. Дані прояви купіювались корекцією та зменшенням харчового навантаження або прийомом спазмолітиків. Тобто, в переважній кількості спостережень клінічний перебіг відповідав перивісцериту або хронічній інтерметуючій злуковій кишковій непрохідності при відсутності стійкої та повної обтурації просвіту кишки.

Рентгенологічні методи доопераційної діагностики ЗХ були малоінформативні, лише в поодиноких випадках були виявлені симптоми порушення пасажу контрастної маси травним трактом і деформація контуру кишки злуками. Більш достовірною та інформативною виявилася ультразвукова діагностика ЗХ. Включаючи даний метод в перелік обов'язкових при

RESULTS AND DISCUSSION

To determine the presence of adhesions in the abdominal cavity, we considered the following data: the patient's history, specific symptoms indicative of adhesion formation and their clinical evolution, the nature and localization of postoperative scars, and results from instrumental diagnostic methods that visualize adhesions in the abdominal cavity (ultrasound, X-ray studies including plain and contrast-enhanced radiography and fluoroscopy, CT, and MRI as indicated). Given the study's focus, the most interest was placed on the data obtained from abdominal ultrasound (US).

The clinical picture of adhesive disease varied in intensity and duration, presenting as constant or periodic dull abdominal pain. At times, the pain assumed cramp-like characteristics, which patients often related to the type and volume of food consumed, with pain typically lacking a precise localization but changing with body position. These symptoms were accompanied by periodic abdominal bloating and inconsistent bowel movements. The manifestations were alleviated by adjusting dietary intake or using antispasmodics. In most observations, the clinical course resembled perivisceritis or chronic intermittent adhesive bowel obstruction without persistent and complete bowel lumen occlusion.

Preoperative radiological diagnostic methods for adhesions were of limited informativeness, detecting symptoms such as impaired contrast passage through the gastrointestinal tract and deformation of bowel contours due to adhesions in only a few cases. Ultrasound emerged as a more reliable and informative method for diagnosing adhesions. This method was selected for its high informativeness, accessibility, safety, lack of need for special patient preparation, and appli-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

реалізації діагностичної програми на доопераційному етапі, ми керувалися його високою інформативністю, доступністю, безпечністю, відсутністю необхідності проведення спеціальної підготовки пацієнтів та можливістю застосування на всіх етапах діагностичного та лікувального процесів. Найбільш коректну та повну інформацію ми отримували при проведенні УЗД на сонографічних системах експертного класу.

Незалежно від локалізації у ЧП злуки мали практично однакову ехографічну картину, характер якої визначався ступенем виразності інфільтративних і рубцевих змін, наявністю потовщення та зміною щільності парієтальної та вісцеральної очеревини, які мали осередковий характер різної поширеності. Ці ознаки були діагностовані в усіх пацієнтів, у яких встановлено діагноз ЗХ ОЧП на доопераційному етапі. Для оцінки патологічного процесу і функціонального стану кишечника нами використовувались такі критерії: товщина і структура стінки кишки, візуалізація деформованих та дилятованих петель кишечника, кількість та характер перистальтичних рухів за одиницю часу, зміщення петель кишечника відносно одна однієї та передньої черевної стінки при диханні та зміні положення тіла, наявність інфільтратів у черевній порожнині, згладженість гаустрації товстої кишки, порушення кровотоку в стінці кишки та в судинах черевної порожнини при кольоровому допплерівському картуванні.

При ультразвуковій візуалізації ЗХ у 123 (47,12%) хворих злуки локалізувалися як ехопозитивні включення витягнутої (лінійної або овальної) форми або у вигляді дрібноточкових утворень. На ехограмах у 31 (11,87%) хворого множинні злуки зливалися або поєднувались між собою з формуванням невеликих глибчастих конгломератів неправильної овальної або округлої конфігурації. У 21 хворого злуковий процес був представлений ехопозитивним неоднорідним тяжем. Поєднання рубцевих змін різної форми виявлено у 31 (11,87%) хворого.

Зазначено, що злуки залежно від локалізації мають особливості, а саме в нижніх відділах черевної порожнини лінійну та дрібноточкову форму, а у верхніх та середніх відділах частіше видно глибчасті включення або рубцеві зміни у вигляді ехопозитивного неоднорідного тяжа. За наявності лінійних та овальних спайок довжина їх значно перевищує поперечник і коливається від 5 до 15 мм. Діаметр дрібноточкових включень коливається від 3 до 10 мм. Розміри глибчастих утворень та ехопозитивних неоднорідних тяжів рубцевої природи були більше 15 мм у діаметрі. Ехощільність рубцевих змін висока або дуже висока, іноді з формуванням акустичної тіні в дистальному напрямку (ззаду злук). Ультразвукова семіотика ЗХ представлена у табл. 1.

Суттєві труднощі під час ультразвукового пошуку злук виникають при запорах і метеоризмі, коли дилятована вмістом кишка перекриває об’єкт, що лоцюється, унеможливлюючи візуалізацію злук. Крім того, ехопозитивні включення (фекальні маси) у просвіті кишки в деяких випадках симулюють рубцевий процес у зазначених ділянках. Однак ехопозитивні включення в ділянці передньої стінки кишки значно більші і аморфніші, ніж злуки; положення фекальних мас у просвіті відповідає конфігурації внутрішньої по-

cability throughout the diagnostic and treatment processes. The most accurate and comprehensive information was obtained using expert-class ultrasound systems.

Regardless of their location within the abdominal cavity, adhesions exhibited a similar echographic pattern, characterized by varying degrees of infiltrative and scarring changes, with thickening and changes in the density of the parietal and visceral peritoneum, showing focal characteristics of varying extent. These signs were observed in all patients diagnosed with abdominal adhesive disease preoperatively. To assess the pathological process and functional state of the intestines, we used the following criteria: wall thickness and structure of the bowel, visualization of deformed and dilated bowel loops, frequency and character of peristaltic movements, bowel loop displacement relative to each other and the anterior abdominal wall during respiration and body position changes, presence of infiltrates in the abdominal cavity, loss of haustra in the colon, and alterations in blood flow in the bowel wall and abdominal vessels as assessed by color Doppler imaging.

In ultrasound visualization of adhesions, 123 (47.12%) patients showed adhesions as echogenic inclusions of an elongated (linear or oval) shape or as fine dot-like formations. In 31 (11.87%) patients, multiple adhesions merged or connected to form small deep conglomerates of irregular oval or round configurations. In 21 patients, the adhesive process was represented by an echogenic heterogeneous band. The combination of scarring changes of various forms was detected in 31 (11.87%) patients.

Adhesions exhibited different features depending on their location: in the lower abdominal regions, they appeared linear and dot-like, while in the upper and middle regions, deep inclusions or scarring changes in the form of echogenic heterogeneous bands were more common. Linear and oval adhesions had lengths significantly exceeding their transverse diameters, ranging from 5 to 15 mm. The diameter of dot-like inclusions ranged from 3 to 10 mm. Deep formations and echogenic heterogeneous bands of scar tissue exceeded 15 mm in diameter. The echogenicity of scar changes was high or very high, sometimes forming acoustic shadows distally (behind the adhesions). The ultrasound semiotics of adhesions are summarized in Table 1.

Significant difficulties in ultrasound detection of adhesions arise in the presence of constipation and meteorism, where dilated bowel contents obscure the target area, making adhesion visualization challenging. Additionally, echogenic inclusions (fecal masses) in the bowel lumen may mimic scarring processes in some cases. However, fecal masses in the anterior bowel wall are generally larger and more amorphous compared to adhesions. The positioning of fecal masses corresponds to the configuration of the bowel’s internal surface, with contours congruent to its posterior surface. Prolonged examination reveals the mobility of bowel contents according to peristalsis and gas flow movements. Upon repeated ultrasound examination, bowel contents, unlike adhesions, change shape, position, and size, or the bowel lumen is cleared of previously visualized content, reducing its diameter.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

верхні передньої стінки кишки, контури якої конгруентні її задній поверхні; та при пролонгованому дослідженні відзначається рухливість кишкового вмісту відповідно до перистальтики та переміщення потоків газу; при повторному проведенні УЗД вміст кишки, на відміну від спайок, змінює свою форму, положення та розміри, або просвіт кишки звільняється від вмісту, який візуалізувався раніше, зменшується її діаметр.

Таблиця 1. Ультразвукова семіотика ЗХ ОЧП
Table 1. Ultrasound Semiology of Abdominal Adhesions

Ультразвукові ознаки / Ultrasound Signs	Кількість хворих Number of Patients
Наявність ехопозитивної структури у черевній порожнині різної форми: Presence of echogenic structures in the abdominal cavity of various forms:	337 (98,25%)
– лінійної або овальної / Linear or oval	105
– дрібноточкові утворення / Fine dot-like formations	63
– у вигляді глибчастих конгломератів неправильної форми / Deep conglomerates of irregular shape	42
– ехопозитивний неоднорідний тяж / Echogenic heterogeneous band	21
– поєднання різних форм / Combination of different forms	42
Розміри злук, що лоцюються – довжина (мм) Sizes of detected adhesions – length (mm)	
– до 5 / Up to 5	21
– від 5 до 10 / 5 to 10	105
– від 10 до 15 / 10 to 15	84
– більше 15 / More than 15	63
Ехощільність рубцевих змін: Echogenicity of scar changes:	
– висока / High	146
– дуже висока / Very high	84
– з формуванням акустичної тіні / With acoustic shadow formation	42
Позитивний ехосимптом «пружини» / Positive echo sign «spring»	93 (35,63%)
Позитивний ехосимптом «куліси» / Positive echo sign «curtain»	46 (17,62%)
Відсутність УЗ-ознак злукової хвороби / Absence of ultrasound signs of adhesive disease	6 (1,75%)

У деяких випадках рубцеві зміни важко диференціювати від інших, звичайних ехопозитивних сигналів навколо органів ЧП, ультразвуковий морфологічний субстрат яких – зображення стінок кровоносних судин, зв'язуючого апарату, фіброзних прошарків у жировій клітковині, маткових труб тощо. Ехосигнали від цих структур (включаючи і стінку кишки) у нижніх відділах черевної порожнини (малий таз) посилюються через нашарування потужного ефекту дорсального посилення від сечового міхура, що збільшує загальний ехопозитивний фон ехограми та створює додаткові перешкоди при верифікації дрібних деталей (злук). Особливу увагу звертали на характер зміщення парієтального та вісцерального листків очеревини, особливо в ділянці післяопераційного рубця, яке в нормі має ковзний характер і при форсованому вдиху взаємна екскурсія листків очеревини становить 3–5 см. При спайковому процесі спостерігається відсутність або обмеження рухливості парієтального та вісцерального листків очеревини, також може спостерігатися симптом «пружини» зворотнє повернення залученої до спайкового процесу зони за рахунок еластичних властивостей злук,

In some cases, it is challenging to differentiate between scar changes and other echogenic signals around abdominal organs. These signals may originate from structures such as the walls of blood vessels, the ligamentous apparatus, fibrous layers in the adipose tissue, fallopian tubes, etc. Echo signals from these structures, including the bowel wall, can be intensified in the lower abdominal regions (pelvis) due to the strong dorsal enhancement effect from the bladder. This effect increases the overall echogenic background of the ultrasound image and creates additional obstacles when verifying small details like adhesions.

Attention was focused on the movement of the parietal and visceral peritoneal layers, especially in the area of postoperative scars. Normally, these layers have a gliding nature, with mutual excursion of the peritoneal layers ranging from 3 to 5 cm during forced inhalation. In adhesive processes, there is either a lack of or limited mobility of the parietal and visceral peritoneal layers. Additionally, the «spring» sign was observed in 93 patients (35.63%). This sign reflects the elastic properties of the adhesions, where the involved zone reverts due to the elasticity of the adhesions.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

що спостерігалося у 93 (35,63%) хворих. У 46 (17,62%) хворих зі ЗП у ЧП спостерігався симптом «куліси» це коли лоцюється лінійна ехопозитивна структура, що деформує петлю кишечника і порушує пасаж по кишечнику, іноді з мінімальним кровотоком в ній.

З метою покращення візуалізації ЗП ЧП вважаємо доцільним, а в діагностично складних випадках необхідним, застосувння прийомів посилення та диференціації ехосигналу, що призводить до значного підвищення діагностичних можливостей сонографічного дослідження ЧП. З цією метою проводили дозоване та індивідуалізоване (згідно з особливостями клінічного перебігу, наявністю й тяжкістю супутньої патології, конституційних даних та інше) водне навантаження. Використання розчину Фортранс (Форлакс або Мовіпреп) навіть у половинній дозі вважаємо доцільним тільки у пацієнтів з відносно низьким ризиком розвитку гострої кишкової непрохідності. Принциповим є проведення УЗД ОЧП у дінамічному режимі зміна положення та клінічно обгрунтовані проміжки часу між дослідженнями. Такі підсилення візуалізації та запроваджена методика дають можливість майже в 100% встановити коректний діагноз на етапі доопераційного обстеження, виявити місця безпечного введення троакарів, особливо в місце встановлення першого порта для проведення оглядової відеолапароскопії та ініціації оперативного втручання з метою лікування основного захворювання.

The «curtain» sign was noted in 46 patients (17.62%) with adhesions in the abdominal cavity. This sign is characterized by a linear echogenic structure that deforms the bowel loop and disrupts bowel passage, sometimes with minimal blood flow.

To improve visualization of adhesions in the abdominal cavity, it is deemed beneficial and necessary, especially in diagnostically challenging cases, to apply techniques that enhance and differentiate echogenic signals. This approach significantly increases the diagnostic capabilities of ultrasound examination. Individualized water load protocols were used, tailored to the clinical course, presence and severity of associated pathology, and other factors.

The use of solutions like Fortrans (Forlax or Moviprep) in even half doses is considered appropriate only for patients with a relatively low risk of acute bowel obstruction. It is crucial to perform dynamic ultrasound imaging–changing positions and clinically justified intervals between examinations. These enhanced visualization techniques and the introduced methods enable accurate diagnosis in almost 100% of cases during preoperative assessment. They also help identify safe trocar insertion sites, particularly the location of the first port for diagnostic laparoscopy and initiating surgical intervention for the primary condition.

ВИСНОВКИ

У результаті проведеного дослідження встановлено, що злукова хвороба органів черевної порожнини має специфічну семіотику, може суттєво впливати на перебіг жовчно-кам'яної хвороби та в залежності від поширеності, виразності сполучнотканинного компонента й порушень моторики кишечника зумовлювати високі ризики розвитку інтра- та післяопераційних ускладнень.

Частота і поширеність злукового процесу в оперованих хворих знаходяться в прямій залежності від кількості лапаротомних втручань, виду, розмірів і локалізації лапаротомного доступу, обсягу оперативного втручання і характеру патології, з приводу якої проводилося втручання, виду дренування ЧП і його тривалості, особливостей перебігу післяопераційного періоду і наявності й характеру післяопераційних ускладнень.

Отримані дані свідчать про високу діагностичну цінність цілеспрямованого УЗД при візуалізації зрощень й дають можливість виявити локалізацію, поширеність і особливості злукового процесу в черевній порожнині та верифікувати ранні ознаки гострої злукової кишкової непрохідності.

Таргетне УЗД ОЧП з метою діагностики ЗХОЧП за розробленим алгоритмом, на відміну від рентгенологічного обстеження, дозволяє у більш короткі строки та майже із 100% точністю встановити деталізований діагноз на доопераційному етапі. Визначити місця безпечного введення троакарів та запобігти розвитку інтра- й післяопераційних ускладнень.

CONCLUSIONS

Impact of Adhesive Disease on Cholelithiasis: Adhesive disease of the abdominal organs, with its specific semiotics, can significantly affect the course of cholelithiasis. Depending on the extent and severity of connective tissue involvement and bowel motility disturbances, it can lead to a high risk of intra- and postoperative complications.

Frequency and Extent of Adhesive Disease: The frequency and extent of adhesive disease in patients who have undergone surgical interventions depend on the number of laparotomies, the type, size, and location of the laparotomy access, the volume of the surgical procedure, the nature of the underlying pathology, the type and duration of abdominal drainage, as well as the characteristics of the postoperative period and the presence and nature of postoperative complications.

Diagnostic Value of Ultrasound: The findings demonstrate the high diagnostic value of targeted ultrasound in visualizing adhesions. Ultrasound allows for accurate identification of the location, extent, and characteristics of adhesive processes in the abdominal cavity, as well as the early signs of acute adhesive bowel obstruction.

Advantages of Targeted Ultrasound: Targeted ultrasound of the abdominal cavity for diagnosing adhesive disease, according to the developed algorithm, is more effective than radiological examination methods. It enables a detailed diagnosis with nearly 100% accuracy in a shorter time frame on the preoperative stage, helps identify safe sites for trocar insertion, and prevents intra- and postoperative complications.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Максименко М.В., Гаврилюк Р.О. Особливості коморбідності у хворих з холедохолітіазом, ускладненим механічною жовтяницею. *Український медичний часопис.* 2024. № 4(162). С. 63–66. DOI: https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.162.255137
2. Pisano M., Allievi N., Gurusamy K. 2020 World Society of Emergency Surgery updated guidelines for the diagnosis and treatment of acute calculus cholecystitis. *World journal of emergency surgery.* 2020. Vol. 15. 61 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s13017-020-00336-x
3. Грубнік В.В., Параняк М.Р. Повторні лапароскопічні антирефлюксні операції у пацієнтів з грижами стравохідного отвору діафрагми. *Харківська хірургічна школа.* 2020. № 3(102). С. 36–39. DOI: https://doi.org/10.37699/2308- 7005.3.2020.07
4. Велигоцкий А.Н., Рыбак И.М., Страховецкий В.С. Симультанное хирургическое лечение желчнокаменной болезни, сочетанной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и грыжей пищеводного отверстия диафрагмы по принципу хирургии быстрого восстановления. *Актуальні питання транспортної медицини*. 2020. № 2. С. 56–64. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.3967612
5. Борисенко В.Б, Ковальов А.М. Бар'єрна профілактика спайкової непрохідності кишечника. *Art of medicine*. 2018. № 4. P. 12–16.
6. Борисенко В.Б., Ковальов А.М. Діагностика та комплексне лікування спайкової непрохідності кишечника. *Kharkiv surgical school.* 2019. №5–6. P. 98–99. DOI: https://doi.org/10.37699/2308-7005.5-6.2019.12
7. Inukai K., Kitagami H., Uehara S. A rare case of secondary small bowel volvulus laparoscopically repositioned: literature review a nd classification. *Surgical Case Reports.* 2018. Vol. 4(1). 65 p.
8. Fan Z.Y., Yang Y., Zhang C.H., Yin R.Y., Tang L., Zhang F. Prevalence and Patterns of Comorbidity Among Middle-Aged and Elderly People in China: A CrossSectional Study Based on CHARLS Data. *International journal of general medicine.* 2021. Vol. 14. P. 1449–1455. DOI: https://doi.org/10.2147/IJGM.S309783
9. Roomaney R.A., van Wyk B., Turawa E.B., Pillay van Wyk V. Prevalence of multimorbidity in South Africa: a systematic review protocol. *BMJ open.* 2020. Vol. 10(12). e042889 p. DOI: https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-042889
10. Boys J.A., Doorly M.G., Zehetner J. et al. Can ultrasound common bile duct diameter predict common bile duct stones in the setting of acute cholecystitis? *American journal of surgery.* 2020. Vol. 207(3). P.432–435. URL: www.umj.com.ua/uk/publikatsia-198403-gostrij-kalkuloznij-holetsistit-onovleni-rekomendatsiyi
11. Thornblade L.W., Verdial F.C., Bartek P. Safety of Expectant Management for Adhesive Small Bowel Obstruction: A Systematic Review. *Journal of the American College of Surgeons.* 2017. Vol. 225(4). 97 p.
12. Hernandez M.C., Haddad N.N., Cullinane D.C. The American Association for the Surgery of Trauma Severity Grade is valid and generalizable in adhesive small bowel obstruction. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery.* 2018. Vol. 84(2). P. 372–378.

REFERENCES

1. Maksymenko MV, Gavrilyuk RO. Peculiarities of comorbidity in patients with choledocholithiasis complicated by mechanical jaundice. *Ukrainian medical journal.* 2024;4(162):63–6. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.162.255137
2. Pisano M, Allievi N, Gurusamy K. 2020 World Society of Emergency Surgery updated guidelines for the diagnosis and treatment of acute calculus cholecystitis. *World journal of emergency surgery.* 2020;15:61 DOI: https://doi.org/10.1186/s13017-020-00336-x
3. Grubnik VV, Paraniak MR. Repeated laparoscopic antireflux operations in patients with hernias of the esophageal opening of the diaphragm. *Kharkivska surgical school.* 2020;3(102):36–9. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.37699/2308- 7005.3.2020.07
4. Velygotsky AN, Rybak IM., Strahovetsky VS. Simultaneous surgical treatment of gallstone disease combined with gastroesophageal reflux disease and hernia of the esophageal opening of the diaphragm according to the principle of quick recovery surgery. *Current issues of transport medicine.* 2020;2:56–64. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.3967612
5. Borysenko VB, Kovalev AM. Barrier prevention of adhesions intestinal obstruction. *Art of medicine.* 2018;4:12–6. (In Ukrainian).
6. Borysenko VB, Kovalev AM. Diagnosis and comprehensive treatment adhesion obstruction of intestines. *Kharkiv surgical school.* 2019;5–6:98–99. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.37699/2308-7005.5-6.2019.12
7. Inukai K, Kitagami H, Uehara S. A rare case of secondary small bowel volvulus laparoscopically repositioned: literature review and classification. *Surgical Case Reports.* 2018;4(1):65.
8. Fan ZY, Yang Y, Zhang CH, Yin RY, Tang L, Zhang F. Prevalence and Patterns of Comorbidity Among Middle-Aged and Elderly People in China: A CrossSectional Study Based on CHARLS Data. *International journal of general medicine.* 2021;14:1449–55. DOI: https://doi.org/10.2147/IJGM.S309783
9. Roomaney RA, van Wyk B, Turawa EB., Pillay van Wyk V. Prevalence of multimorbidity in South Africa: a systematic review protocol. *BMJ open,* 2020;10(12):e042889. DOI: https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-042889
10. Boys JA, Doorly MG, Zehetner J. Can ultrasound common bile duct diameter predict common bile duct stones in the setting of acute cholecystitis? *American journal of surgery*. 2020;207(3):432–5. URL: www.umj.com.ua/uk/publikatsia-198403-gostrij-kalkuloznij-holetsistit-onovleni-rekomendatsiyi
11. Thornblade LW, Verdial FC, Bartek P. Safety of Expectant Management for Adhesive Small Bowel Obstruction: A Systematic Review. *Journal of the American College of Surgeons.* 2017;225(4):97.
12. Hernandez MC, Haddad NN, Cullinane DC. The American Association for the Surgery of Trauma Severity Grade is valid and generalizable in adhesive small bowel obstruction. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery.* 2018;84(2):372–378.

Перспективи подальших досліджень

Продовження вивчення діагностичних можливостей новітніх методів дослідження та удосконалення існуючих у виявленні особливостей перебігу та поширеності патологічних змін при коморбідній патології органів черевної порожнини, є перспективним у сучасних умовах зростання кількості пацієнтів із захворюваннями органів травлення, які потребують проведення оперативних втручань.

Prospects for further research

Continuing to study the diagnostic capabilities of the latest research methods and improving the existing ones in identifying the peculiarities of the course and prevalence of pathological changes in comorbid pathology of the abdominal cavity is promising in the modern conditions of the growth of patients with diseases of the digestive organs that require surgical interventions for treatment.

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, and other organizations whose products, services, and 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.
Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри хірургічних хвороб Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України «Розробка малоінвазивних оперативних втручань з використанням низьких температур в лікуванні хворих на жовчно-

Funding information

Funding by expenditures of the State Budget of Ukraine.
The article is a fragment of the planned research work of the Department of Surgical Diseases of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine «Development of minimally invasive surgical interventions using low temperatures in the treatment of patients

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

кам'яну хворобу, виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки», номер державної реєстрації 0100U005308 та «Вивчення дії фізичних методів та морфо-функціонального 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.

with gallstones, gastric and duodenal ulcers», state registration number 0100U005308 and «Study of the action of physical methods and the morphofunctional state of blood vessels, stomach tissues, small and large intestines during their dissection and coagulation in gastrointestinal tract surgery», state registration number 0106U001585, applied GDR, head head of the department of surgical diseases of the medical faculty of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Doctor of Medical Sciences, Professor E.D. Hvorostov.

Подяка **Acknowledgments**

Висловлюємо слова подяки колективам медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедрі хірургічних хвороб 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.

I would like to express my gratitude to the staff of the medical faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Surgical Diseases and Surgical Department of the Kharkiv Clinical Hospital on Railway Transport No. 2 (Branch «Health Care Center» Joint-Stock Company «Ukrainian Railway») for assistance in conducting medical and scientific work and preparing the article for publication.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

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: *написання тексту статті формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

Бичков Сергій Олександрович – 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: sergey.o.bychkov@karazin.ua
моб.: +38 (057) 372-19-08
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Гриньов Роман Миколайович – кандидат медичних наук, доцент 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: roman.m.grinjov@karazin.ua
моб.: +38 (057) 372-19-08
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті.*

Душик Людмила Миколаївна – кандидат медичних наук, доцент 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: dushiklyudmila@gmail.com
моб.: +38 (057) 372-19-08
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Tsivenko Oleksij Ivanovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Full 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: *writing the article text, formulation of the research objective, conducting experimental studies, analysis of the obtained data, and their statistical processing.*

Bychkov Serghij Oleksandrovych – Doctor of Medical Sciences, Full 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: sergey.o.bychkov@karazin.ua
tel.: +38 (057) 372-19-08
Author's contribution: *selection of literary sources on the research topic, participation in conducting experimental studies, writing the article text, and formulation of conclusions*

Ghrynjov Roman Mykolayovych – Candidate of Medical Sciences, Associate 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: roman.m.grinjov@karazin.ua
tel.: +38 (057) 372-19-08
Author's contribution: *Concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation of data, writing of the article.*

Dushyk Ljudmyla Mykolayivna – Candidate of Medical Sciences, Associate 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: dushiklyudmila@gmail.com
моб.: +38 (057) 372-19-08
Author's contribution: *concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation of data, writing of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 18.06.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 20.08.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 358–365
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):358–365

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-07
УДК: 616.12-008.331.1-039.3-073"34"

Циркадний ритм артеріального тиску та його взаємозв'язки з короткостроковою варіабельністю

Тихонова Т.М., https://orcid.org/0000-0001-9196-9113, e-mail: tmtykhonova@karazin.ua
Лисенко Н.В., https://orcid.org/0000-0003-1981-9377, e-mail: n.v.lysenko@karazin.ua

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

Circadian rhythm of blood pressure and its correlations with short-term variability

Tykhonova T.M., https://orcid.org/0000-0001-9196-9113, e-mail: tmtykhonova@karazin.ua
Lysenko N.V., https://orcid.org/0000-0003-1981-9377, e-mail: n.v.lysenko@karazin.ua

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

Ключові слова:

артеріальна гіпертензія, короткострокова варіабельність артеріального тиску, ранковий підйом артеріального тиску, ранкова динаміка артеріального тиску, добове моніторування артеріального тиску.

Для кореспонденції:

Тихонова Тетяна Михайлівна
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра внутрішньої медицини;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: tmtykhonova@karazin.ua

© *Тихонова Т.М., Лисенко Н.В., 2024*

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Артеріальна гіпертензія (АГ) є основним фактором ризику серцево-судинних (СС) та цереброваскулярних захворювань (ЦВЗ). Щоб ефективно запобігти пошкодженню органів-мішеней та знизити захворюваність і смертність, важливим є адекватний контроль рівня артеріального тиску (АТ), у тому числі його варіабельності (ВАР). Остання включає циркадні, короткострокові та довгострокові компоненти, і найкраще ВАР можна задокументувати за допомогою позаофісних методів моніторування АТ, таких як добове моніторування (ДМАТ). Ранковий підйом (РП) АТ є одним із компонентів варіабельності, його порушення пов'язані з підвищеним ризиком інсульту та СС подій, незалежно від рівня АТ.
Мета роботи – вивчення взаємозв'язків між показниками ранкового підйому артеріального тиску та короткостроковою варіабельністю артеріального тиску у пацієнтів з артеріальною гіпертензією.
Матеріали та методи. У дослідження увійшло 169 пацієнтів з АГ віком від 43 до 78 років. За результатами ДМАТ проводили оцінку ранкової динаміки та короткострокової ВАР АТ. Для оцінки ранкової динаміки АТ вивчали швидкість та амплітуду РП систолічного АТ (САТ) та діастолічного АТ (ДАТ). ВАР САТ та ДАТ оцінювали окремо для денного, нічного та 24-годинного періодів із застосуванням індексів SD, SDcorr та ARV.
Результати та їх обговорення. У цьому відкритому нерандомізованому одномоментному дослідженні пацієнтів з АГ виявлений прямий зв'язок між ВАР АТ та його ранковою динамікою – підвищення ВАР асоціювалося з більшими амплітудою та швидкістю РП АТ. Встановлені кореляції були більш тісними для амплітуди ранкового підйому (АРП), ніж для швидкості ранкового підйому (ШРП), що дозволяє зробити висновок про різні патогенетичні механізми їх порушень та потребує подальшого вивчення цього феномена. Підвищення ВАР САТ асоціювалося не тільки зі змінами ранкової динаміки САТ, але й зі змінами ранкової динаміки ДАТ, та навпаки.
Висновки. ДМАТ має становити суттєву частину ведення пацієнтів з АГ з індивідуалізованим підходом до фармакотерапії для досягнення не тільки оптимального 24-годинного контролю АТ, але й забезпечення корекції підвищеної ВАР та надмірного ранкового підйому для найкращого серцево- та цереброваскулярного захисту.

Для цитування:

Тихонова Т.М., Лисенко Н.В. Циркадний ритм артеріального тиску та його взаємозв'язки з короткостроковою варіабельністю. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 358–365. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-07

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 358–365
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):358–365

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Key words:

arterial hypertension, short-term blood pressure variability, morning rise of blood pressure, ambulatory blood pressure monitoring.

For correspondence:

Tykhonova Tetiana Mykhaylivna
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Internal Medicine;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: tmtykhonova@karazin.ua

© *Tykhonova T.M., Lysenko N.V., 2024*

ABSTRACT

Background. Arterial hypertension (AH) is the main risk factor for cardiovascular (CV) and cerebrovascular diseases. To effectively prevent damage to target organs and reduce morbidity and mortality, adequate control of blood pressure (BP), including its variability (VAR), is important. The latter includes circadian, short-term, and long-term components, and VAR is best documented with out-of-office BP monitoring methods such as ambulatory BP monitoring (ABPM). The morning rise (MR) of BP is one of the components of variability, its disturbances are associated with an increased risk of stroke and CV events, regardless of the level of BP.

Purpose – the aim of the study was to study the relationship between the morning rise in blood pressure and the short-term blood pressure variability in patients with arterial hypertension.

Materials and Methods. The study included 169 patients with hypertension aged 43 to 78 years. Based on the results of ABPM, an assessment of the morning dynamics and short-term BP VAR were carried out. To assess the morning dynamics of blood pressure, the speed and amplitude of MR of systolic BP (SBP) and diastolic BP (DBP) were studied. SBP and DBP VAR were evaluated separately for day, night, and 24-hour periods using the SD, SDcorr, and ARV indices.

Results. In this open, non-randomized, cross-sectional study of patients with hypertension, a direct relationship between BP VAR and its morning dynamics was revealed – the increase in VAR was associated with greater amplitude and speed of BP MR. The established correlations were closer for MR amplitude than for MR speed, which allows to draw a conclusion about different pathogenesis mechanisms of their disorders and requires further study of this phenomenon. An increase in VAR SBP was associated not only with changes in the morning dynamics of SBP, but also with changes in the morning dynamics of DBP, and vice versa.

Conclusions. ABPM should be an essential part of the management of hypertensive patients with an individualized approach to pharmacotherapy to achieve not only optimal 24-hour BP control, but also correction of elevated BP and excessive morning rise for the best cardiovascular and cerebrovascular protection.

For citation:

Tykhonova TM, Lysenko NV. Circadian rhythm of blood pressure and its correlations with short-term variability. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2024;32(3(50)):358–365. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-07

ВСТУП

Артеріальна гіпертензія (АГ) є основним фактором ризику серцево-судинних (СС) і цереброваскулярних захворювань (ЦВЗ). Щоб ефективно запобігти ушкодженню органів-мішеней та знизити ризик виникнення серцево-судинних подій і смертність, важливим визнаний адекватний контроль артеріального тиску (АТ) протягом усієї доби [1].

Ранковий підйом (РП) є складовою нормального циркадного ритму АТ, фізіологічною відповіддю організму на підвищення активності симпатичної нервової системи при переході від сну до неспання [2–4]. Проте, у пацієнтів з АГ він може бути надмірним, що є доведеним незалежним фактором ризику СС ускладнень та смертності [2–5]. РП АТ є одним із компонентів варіабельності (ВАР) АТ, на величину якого впливає низка зовнішніх та внутрішніх факторів [5].

ВАР АТ включає циркадні, короткострокові та довгострокові компоненти, що найкраще можна задокументувати за допомогою добового моніторування АТ (ДМАТ) [6]. Існує велика кількість доказів, що пов'язують як ВАР АТ, так і РП АТ з підвищенням частоти несприятливих СС та ЦВ подій, а також ураженням органів-мішеней [7–9].

Існують різні способи кількісного визначення РП АТ. Швидкість РП АТ, разом з амплітудою РП АТ,

INTRODUCTION

Arterial hypertension (AH) is the main risk factor for cardiovascular (CV) and cerebrovascular diseases. In order to effectively prevent damage to target organs and reduce the risk of CV events and mortality, adequate control of blood pressure (BP) throughout the day is recognized as important [1].

The morning rise (MR) is a component of the normal circadian rhythm of BP, the physiological response of the body to increased activity of the sympathetic nervous system during the transition from sleep to awake [2–4]. However, in patients with AH, it can be excessive, which is a proven independent risk factor for CV complications and mortality [2–5]. MR of BP is one of the components of BP variability (VAR), the value of which is affected by a number of external and internal factors [5].

BP VAR includes circadian, short-term, and long-term components, which can best be documented with ambulatory BP monitoring (ABPM) [6]. There is a large amount of evidence linking both BP VAR and BP MR with an increase in the frequency of adverse CV events, as well as target organ damage [7–9].

There are different methods of quantitative determination of the BP MR. According to a number of researchers, the speed of BP MR, together with the amplitude of BP MR, can be used as indicators of CV risk [2].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

за твердженням низки дослідників, можуть бути використані в якості індикаторів СС ризику [2].

Мета роботи – вивчення взаємозв'язків між показниками ранкового підйому артеріального тиску та короткостроковою варіабельністю артеріального тиску у пацієнтів з артеріальною гіпертензією.

Objective – the aim of the study was to study the relationship between the morning rise in blood pressure and the short-term blood pressure variability in patients with arterial hypertension.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження було залучено 169 пацієнтів з АГ віком від 43 до 78 років. Критеріями виключення були кризовий перебіг АГ, наявність будь-яких гострих станів (захворювання, інфекції, травми, операції тощо) в анамнезі протягом попередніх 3 міс., хронічні захворювання в стадії декомпенсації або загострення, а також клінічно значущі відхилення лабораторних показників.

Всім пацієнтам проводилося ДМАТ з використанням комп'ютерної системи «Кардіосенс» ХАІ Медика з осцилометричним методом вимірювання АТ. Моніторування проводилося відповідно до сучасних стандартів з урахуванням добової активності пацієнтів [10]. АТ у денний період вимірювали з інтервалом 15 хв., в нічний – 30 хв. Визначення періодів дня та ночі проводили за даними щоденника пацієнта.

Для оцінки ранкової динаміки АТ вивчали швидкість та амплітуду РП систолічного АТ (САТ) та діастолічного АТ (ДАТ). Швидкість РП (ШРП) АТ визначали в проміжку між 4.00 та 10.00 годинами ранку як нормований за часом показник. Амплітуду РП (АРП) АТ визначали як різницю між максимальним та мінімальним значеннями АТ в проміжку між 4.00 та 10.00 годинами ранку.

ВАР САТ та ДАТ оцінювали окремо для денного, нічного та 24-годинного періодів із застосуванням індексів SD, SD_{corr} та ARV. Індекс SD розраховували за формулою:

де

X_i – окремі значення вибірки,

X – середнє арифметичне вибірки,

n – кількість елементів вибірки.

Індекс SD_{corr} визначали як SD, скориговане з урахуванням кількості годин у кожному з основних часових періодів моніторування за формулою:

$$SD_{corr} = \frac{SD_{день} \times денні\ години + SD_{ніч} \times нічні\ години}{денні\ години + нічні\ години}.$$

Індекс ARV обчислювали за формулою:

де

X_i – окремі значення вибірки,

n – кількість елементів вибірки.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакетів статистичних програм STATISTICA 10.0 та Microsoft Excel 2010. Для кількісних показників розраховували середнє значення – M, стандартне відхилення – Sd, медіану – Me, мінімальне значення – Min, максимальне значення – Max.

MATERIALS AND METHODS

169 patients with AH aged 43 to 78 years were involved in the study. The exclusion criteria were the crisis course of AH, the presence of any acute conditions (diseases, infections, injuries, operations, etc.) in the anamnesis during the previous 3 months, chronic diseases in the stage of decompensation or exacerbation, as well as clinically significant deviations of laboratory parameters.

All patients underwent ABPM using the «Cardiosens» computer system of KhAI Medica with the oscillometric method of blood pressure measurement. Monitoring was carried out in accordance with modern standards, taking into account the daily activity of patients [10]. Blood pressure was measured at 15-minute intervals during the day, and at 30-minute intervals during the night. Day and night periods were determined based on the patient's diary.

To assess the morning dynamics of BP, the MR speed and amplitude of systolic BP (SBP) and diastolic BP (DBP) were studied. The speed of BP MR (MRS) was determined in the interval between 4.00 and 10.00 in the morning as a time-normalized indicator. The amplitude of BP MR (MRA) was determined as the difference between the maximum and minimum values of BP in the interval between 4.00 and 10.00 in the morning.

SBP and DBP VAR were evaluated separately for day, night, and 24-hour periods using the SD, SD_{corr}, and ARV indices. The SD index was calculated according to the formula:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1}\sum_{i-1}^{n}\left(X_i - X\right)^2},$$

where

X_i – individual values of the sample,

X – the arithmetic mean of the sample,

n – the number of sample elements.

The SD_{corr} index was defined as the SD corrected for the number of hours in each of the main time periods of monitoring according to the formula:

$$SD_{corr} = \frac{SD_{awake} \times awake\ hours + SD_{nighttime} \times nighttime\ hours}{awake\ hours + nighttime\ hours}.$$

The ARV index was calculated according to the formula:

$$ARV = \frac{1}{n-1}\sum_{i=1}^{n}\left|X_{i=1} - X_i\right|,$$

where

X_i – individual values of the sample,

n – the number of sample elements.

The statistical analysis of the obtained data was carried out with the statistical programs packages STATISTICA 10.0 and Microsoft Excel 2010. For quantitative data, the average value – M, standard deviation – Sd, median – Me, minimum value – Min, maximum value – Max were calculated.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Для оцінки нормальності розподілу кількісних змінних використовували статистику Колмогорова–Смирнова та Шапіро–Уілка. Для якісних ознак визначали їх частку, виражену у відсотках.

Кореляційний аналіз проводили за методом Спірмена, розраховували r_S ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена. Силу кореляційного зв'язку оцінювали відповідно до сучасних стандартів [11].

Kolmogorov–Smirnov's and Shapiro–Wilk's statistics were used to assess the normality of the distribution of quantitative variables. For qualitative characteristics, their quotient, expressed as a percentage, was determined.

Correlation analysis was carried out using the Spearman method, Spearman's rank correlation coefficient r_S was calculated. The strength of correlation was evaluated according to modern standards [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

У дослідження увійшло 169 пацієнтів з АГ – 107 жінок (63%) та 62 чоловіки (37%) віком від 43 до 78 років, середній вік 60 ± 8,3 роки. Основні характеристики учасників дослідження надано в таблиці 1.

The study included 169 patients with AH – 107 women (63%) and 62 men (37%) aged 43 to 78 years, average age 60 ± 8.3 years. The main characteristics of the study participants are given in Table 1.

Таблиця 1. Основні характеристики пацієнтів, що увійшли у дослідження
Table 1. The main characteristics of the study participants

Параметр / Characteristic	
Чоловіки / Men, n (%)	62 (37)
Вік, роки / Age, years	60 ± 8,3
Паління / Smoking, n (%)	31 (18)
ІМТ, кг/м^2 / BMI, kg/m^2	30 ± 5,04
АГ ІІІ стадії / AH 3d stage, n (%)	24 (14)
Цукровий діабет / Diabetes mellitus, n (%)	34 (20)
САТ офісний, мм рт.ст / Office SBP, mm Hg	138 ± 20,6
ДАТ офісний, мм рт.ст / Office DBP, mm Hg	86 ± 12,5
Загальний холестерин, ммоль/л / Total Cholesterol, mmol/l	6,1 ± 2,19
Глюкоза натще, ммоль/л / Fasting glucose, mmol/l	5,8 ± 2,47
ШКФ, мл/хв/1,73 м^2 / GFR, ml/min/1,73 m^2	94,8 ± 29,40

Примітка: ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації за формулою CKD-EPI-2021.
Note: GFR – glomerular filtration rate according to the CKD-EPI-2021 formula.

За результатами ДМАТ середні значення ± Sd САТ протягом 24-годинного, денного та нічного періодів перевищували рекомендовані порогові значення [12] та становили: 134,0 ± 15,4; 137,0 ± 15,9 та 125,0 ± 15,7 мм рт.ст., відповідно. Середні значення ± Sd ДАТ протягом 24-годинного, денного та нічного періодів становили 79,0 ± 9,9; 82,0 ± 10,5 та 71,0 ± 9,6 мм рт.ст. відповідно. Серед вказаних значень тільки сереньонічний ДАТ був вищим за встановлені нормативи [12].

У таблиці 2 представлено значення індексів ВАР АТ у пацієнтів, що увійшли у дослідження.

According to the results of ABPM, the average values ± Sd of SBP during the 24-hour, day and night periods exceeded the recommended threshold values [12] and were: 134±15.4, 137±15.9 and 125±15.7 mm Hg. The average values ± Sd of DBP during the 24-hour, day, and night periods were 79±9.9, 82±10.5, and 71±9.6 mm Hg. Among the specified values, only nighttime DAT was higher than the established normal values [12].

Table 2 presents the values of the BP VAR indices in the patients included in the study.

Таблиця 2. Індекси варіабельності артеріального тиску, мм рт.ст, M ± Sd (Me) min – max
Table 2. Blood pressure variability inidices, mm Hg, M ± Sd (Me) min – max

Показник / Parameter	24 години / 24-hour period	День / Awake period	Ніч / Nighttime period
САТ / SBP			
–	13±2,7 (13) 8–23		
SD	15±3,1 (15) 9–26	14,1±3,26 (13,8) 6,1–26,6	11,6±3,41 (11,3) 4,4–23,2
ARV	12,0±2,64 (11,8) 6,6–20,3	12,1±3,22 (11,7) 1,8–21,8	12,4±3,86 (11,5) 4,9–23,6
ДАТ / DBP			
SD_w	10,3±2,70 (9,9) 4,7–22,1		
SD	11,9±3,08 (11,6) 5,5–23,1	10,9±3,15 (10,4) 4,0–23,6	9,1±2,83 (8,9) 2,6–20,3
ARV	9,0±2,71 (8,9) 3,9–20,3	9,2±3,35 (8,6) 3,4–28,6	8,9±2,95 (8,8) 1,8–21,1

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Медіана ШРП САТ дорівнювала 8 мм рт.ст., максимальне та мінімальне значення становили – 280 та 60 мм рт.ст./год відповідно. Медіана ШРП ДАТ дорівнювала 9 мм рт.ст., максимальне та мінімальне значення становили – 224 та 116 мм рт.ст./год відповідно.

В таблиці 3 надано результати аналізу асоціацій між ШРП АТ та ВАР АТ.

The median SRP of SAT was equal to 8 mm Hg, the maximum and minimum values were – 280 and 60 mm Hg/h, respectively. The median SRP of DAT was equal to 9 mm Hg, the maximum and minimum values were – 224 and 116 mm Hg/hour, respectively.

Table 3 presents the results of the analysis of associations between the BP MRS and the VAR of the BP.

Таблиця 3. Кореляційний зв'язок між індексами варіабельності артеріального тиску та швидкістю ранкового підйому артеріального тиску
Table 3. Correlation between indices of blood pressure variability and morning rise blood pressure speed

Індекс ВАР АТ / BP VAR indices	24 години / 24-hour period		Денний період / Awake period		Нічний період / Nighttime period	
	r	p	*r*	p	*r*	p
ШРП САТ / SBP MRS						
SD_w САТ / SDw SBP	0,0	0,592	–	–	–	–
SD_w ДАТ / SDw DBP	–0,0	0,837	-	–	–	–
SD САТ / SD SBP	0,1	0,252	0,1	0,402	–0,0	0,677
SD ДАТ / SD DBP	0,0	0,679	–0,0	0,853	–0,1	0,458
ARV САТ / ARV SBP	0,1	0,398	0,1	0,457	0,1	0,392
ARV ДАТ / ARV DBP	–0,0	0,621	–0,0	0,557	0,1	0,401
ШРП ДАТ / DBP MRS						
SD_w САТ / SDw SBP	0,1	0,097	–	–	–	–
SD_w ДАТ / SDw DBP	0,2	0,019	–	–	–	–
SD САТ / SD SBP	0,2	0,018	0,1	0,119	0,1	0,235
SD ДАТ / SD DBP	0,2	0,004	0,2	0,021	0,1	0,239
ARV САТ / ARV SBP	0,2	0,044	0,2	0,045	0,0	0,669
ARV ДАТ / ARV DBP	0,2	0,031	0,2	0,031	0,1	0,343

Примітка:
r – коефіцієнт кореляції Спірмена,
p – рівень статистичної значущості.

Note:
r – Spearman's correlation coefficient,
p – the level of statistical significance.

Будь-яких статистично значущих асоціацій між ШРП САТ та ВАР АТ не встановлено. Водночас для ШРП ДАТ виявлено прямі статистично значущі зв'язки з ВАР як САТ, так і ДАТ протягом денного періоду. Ці кореляції зберігалася і для добової ВАР АТ. Для нічної ВАР АТ будь-яких статистично значущих асоціацій зі ШРП САТ не визначено (див. табл. 3).

Медіана АРП САТ дорівнювала 50 мм рт.ст., максимальне та мінімальне значення становили 15 та 95 мм рт.ст. відповідно. Медіана АРП ДАТ дорівнювала 38 мм рт.ст., максимальне та мінімальне значення становили 11 та 82 мм рт.ст. відповідно.

В таблиці 4 наведено результати аналізу асоціацій між ВАР АТ та амплітудою РП САТ та ДАТ.

Як свідчать дані наведені в таблиці 4, майже для всіх індексів ВАР АТ, що вивчалися, встановлено прямі тісні кореляції з АРП САТ та ДАТ. При цьому ВАР САТ мала статистично значущі кореляції не тільки з АРП САТ, але й також з АРП ДАТ, хоча й меншої сили. Аналогічні зв'язки встановлено і для ВАР ДАТ – тісніші асоціації визначено для АРП ДАТ, для АРП САТ також виявлено статистично значущі асоціації, але меншої сили (див. табл. 4).

Дане дослідження є одним з небагатьох, у яких вивчалися взаємозв'язки короткострокової ВАР та ранкової динаміки АТ в українській популяції. В цьому

No statistically significant associations between SBP MRS and BP VAR have been established. At the same time, direct, statistically significant relationships with VAR, both SBP and DBP, during the daytime period, were found for DBP MRS. These correlations were also observed for 24-hours BP VAR. For nocturnal BP VAR no statistically significant associations with SBP MRS were determined (see Table 3).

The median SBP MRA was equal to 50 mm Hg, the maximum and minimum values were 15 and 95 mm Hg. The median DBP MRA was equal to 38 mm Hg, the maximum and minimum values were 11 and 82 mm Hg.

Table 4 presents the results of the analysis of associations between BP VAR and the amplitude of the SBP and DBP MR.

As the data in Table 4 show, direct and close correlations with SBP and DBP MRA were established for almost all studied indices of BP VAR. At the same time, SBP VAR had statistically significant correlations not only with SBP MRA, but also with DBP MRA, albeit to a lesser extent. Similar relationships were established for DBP VAR – closer associations were determined for DBP MRA, statistically significant associations were also found for SBP MRA, but of lesser strength (see Table 4).

This study is one of the few that studied the relationship between short-term blood pressure variability and

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

відкритому нерандомізованому одномоментному дослідженні пацієнтів з АГ виявлений прямий зв'язок між ВАР АТ та його ранковою динамікою – підвищення ВАР асоціювалося з більшими амплітудою та швидкістю РП АТ. Встановлені кореляції були більш тісними для АРП, ніж для ШРП, що дозволяє зробити висновок про різні патогенетичні механізми їх порушень та потребує подальшого вивчення цього феномена.

morning blood pressure dynamics in the Ukrainian population. In this open, non-randomized, cross-section study of patients with hypertension, a direct relationship between BP VAR and its morning dynamics was revealed – the increase in VAR was associated with greater amplitude and speed of BP MR. The established correlations were closer for MRA than for MRS, which allows to conclude about different pathogenesis mechanisms of their disorders and requires further study of this phenomenon.

Таблиця 4. Кореляційний зв'язок між індексами варіабельності артеріального тиску та амплітудою ранкового підйому артеріального тиску
Table 4. Correlation between blood pressure variability indices and the amplitude of the morning rise in blood pressure

Індекс ВАР АТ / BP VAR indices	24 години / 24-hour period		Денний період / Awake period		Нічний період / Nighttime period	
	r	p	*r*	p	*r*	p
АРП САТ / SBP MRA						
SD_w САТ / SDw SBP	0,5	< 0,001	–	–	–	–
SD_w ДАТ / SDw DBP	0,4	< 0,001	–	–	–	–
SD САТ / SD SBP	0,6	< 0,001	0,5	< 0,001	0,2	0,001
SD ДАТ / SD DBP	0,5	< 0,001	0,4	< 0,001	0,2	0,002
ARV САТ / ARV SBP	0,4	< 0,001	0,4	< 0,001	0,2	0,040
ARV ДАТ / ARV DBP	0,3	< 0,001	0,3	< 0,001	0,2	0,025
АРП ДАТ / DBP MRA						
SD_w САТ / SDw SBP	0,3	< 0,001	–	–	–	–
SD_w ДАТ / SDw DBP	0,6	< 0,001	–	–	–	–
SD САТ / SD SBP	0,4	< 0,001	0,3	< 0,001	0,1	0,245
SD ДАТ / SD DBP	0,6	< 0,001	0,6	< 0,001	0,3	< 0,001
ARV САТ / ARV SBP	0,3	< 0,001	0,3	< 0,001	0,1	0,194
ARV ДАТ / ARV DBP	0,5	< 0,001	0,5	< 0,001	0,3	< 0,001

Примітка:
r – коефіцієнт кореляції Спірмена,
p – рівень статистичної значущості.
Note:
r – Spearman's correlation coefficient,
p – the level of statistical significance.

Також варто зазначити, що в цьому дослідженні підвищення ВАР САТ асоціювалося не тільки зі змінами ранкової динаміки САТ, але й зі змінами ранкової динаміки ДАТ, та навпаки. Зазначене вказує на наявність спільних патогенетичних механізмів порушення ранкової динаміки та підвищення ВАР АТ, що дозволяє певною мірою пояснити, чому більшість несприятливих СС подій відбувається саме в ранкові години.

It is also worth noting that in this study, the increase in SBP VAR was associated not only with changes in the morning dynamics of SBP, but also with changes in the morning dynamics of DBP, and vice versa. This indicates the presence of common pathogenesis mechanisms of violation of the morning dynamics and increase in BP VAR, which allows to some extent to explain why the majority of adverse CV events occur in the morning hours.

ВИСНОВКИ

Встановлено прямий зв'язок між ВАР АТ та його ранковою динамікою, а саме: підвищення ВАР асоціювалося з більшими амплітудою та швидкістю РП АТ.

Виявлені кореляції були більш тісними для АРП, ніж для ШРП.

Встановлений зв'язок між ВАР АТ та його ранковою динамікою слід враховувати при корекції гіпотензивної терапії для зниження ВАР АТ та, відповідно й амплітуди та швидкості РП АТ, з метою запобігання розвитку несприятливих СС подій.

CONCLUSIONS

A direct relationship between BP VAR and its morning dynamics was established, namely: an increase in BP VAR was associated with greater amplitude and speed of BP MR.

The revealed correlations were closer for MRA than for MRS.

The established relationship between the BP VAR and its morning dynamics should be taken into account when correcting antihypertensive treatment to reduce the BP VAR and, accordingly, the amplitude and speed of the BP MR in order to prevent the development of adverse CV events.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Уніфікований клінічний протокол первинної та спеціалізованої медичної допомоги. Гіпертонічна хвороба (артеріальна гіпертензія). *Наказ Міністерства охорони здоров'я України* № 1581 від 12.09.2024. 2024. URL: https://moz.gov.ua/uk/decrees/nakaz-moz-ukrayini-vid-12-09-2024-1581-pro-zatverdzhennya-unifikovanogo-klinichnogo-protokolu-pervinnoyi-ta-specializovanoyi-medichnoyi-dopomogi-gipertonichna-hvoroba-arterialna-gipertenziya
2. Mokwatsi G.G., Schutte A.E., Mels C.M.C., Kruger R. Morning blood pressure surge in young black and white adults: The African-PREDICT Study. *Journal of Human Hypertension*. 2019. Vol. 33. P. 22–33. DOI: https://doi.org/10.1038/s41371-018-0089-3
3. Bilo G., Grillo A., Guida V., Parati G. Morning blood pressure surge: pathophysiology, clinical relevance and therapeutic aspects. *Integrated Blood Pressure Control*. 2018. Vol. 11. P. 47–56. DOI: https://doi.org/10.2147/IBPC.S130277
4. Harbalıoğlu H., Kaypaklı O. Morning blood pressure surge is associated with the severity of stable coronary artery disease in hypertensive patients. *Clinical and Experimental Hypertension.* 2021. Vol. 43. P. 334–340. DOI: https://doi.org/ 10.1080/10641963.2021.1883050
5. Sogunuru G.P., Kario K., Shin J., Chen C.H., Buranakitjaroen P., Chia Y.C., et al. Morning surge in blood pressure and blood pressure variability in Asia: Evidence and statement from the HOPE Asia Network. *Journal of Clinical Hypertension.* 2019. Vol. 21. 324 p. DOI: https://doi.org/10.1111/JCH.13451
6. Каніщева О.В. Сучасні аспекти короткострокової варіабельності артеріального тиску при артеріальній гіпертензії. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Медицина»*. 2022. №45. С. 82–96. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2022-45-09
7. Rosei E.A., Chiarini G., Rizzoni D. How important is blood pressure variability? *European Heart Journal, Supplements.* 2020. Vol. 22. P. E1–E6. DOI: https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/SUAA061
8. Palatini P., Saladini F., Mos L., Fania C., Mazzer A., Cozzio S., et al. Short-term blood pressure variability outweighs average 24-h blood pressure in the prediction of cardiovascular events in hypertension of the young. *Journal of Hypertension.* 2019. Vol. 37. P. 1419–1426. DOI: https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002074
9. Renna N.F., Ramirez J.M., Murua M., Bernasconi P.A., Repetto J.M., Verdugo R.A. Morning blood pressure surge as a predictor of cardiovascular events in patients with hypertension. *Blood Pressure Monitoring.* 2023. Vol. 28. P. 149–157. DOI: https://doi.org/10.1097/MBP.0000000000000641
10. Stergiou G.S., Palatini P., Parati G., O'Brien E., Januszewicz A., Lurbe E. 2021 European Society of Hypertension practice guidelines for office and out-of-office blood pressure measurement. *Journal of Hypertension.* 2021. Vol. 39. P. 1293–1302. DOI: https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002843
11. Schober P., Schwarte L.A. Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. *Anesthesia and Analgesia.* 2018. Vol. 126. P. 1763–1768. DOI: https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864
12. Mancia G., Kreutz R., Brunström M., Burnier M., Grassi G., Januszewicz A., et al. 2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension Endorsed by the European Renal Association (ERA) and the International Society of Hypertension. *Journal of Hypertension.* 2023. DOI: https://doi.org/10.1097/hjh.0000000000003480

REFERENCES

1. Unified clinical protocol of primary and specialized medical care. Hypertensive disease (hypertension). *Order of the Ministry of Health of Ukraine* No. 1581 dated September 12, 2024. 2024. (In Ukrainian). URL: https://moz.gov.ua/uk/decrees/nakaz-moz-ukrayini-vid-12-09-2024-1581-pro-zatverdzhennya-unifikovanogo-klinichnogo-protokolu-pervinnoyi-ta-specializovanoyi-medichnoyi-dopomogi-gipertonichna-hvoroba-arterialna-gipertenziya
2. Mokwatsi GG, Schutte AE, Mels CMC, Kruger R. Morning blood pressure surge in young black and white adults: The African-PREDICT Study. *Journal of Human Hypertension.* 2019;33:22–33. DOI: https://doi.org/10.1038/s41371-018-0089-3
3. Bilo G, Grillo A, Guida V, Parati G. Morning blood pressure surge: pathophysiology, clinical relevance and therapeutic aspects. *Integrated Blood Pressure Control.* 2018;11:47–56. DOI: https://doi.org/10.2147/IBPC.S130277
4. Harbalıoğlu H, Kaypaklı O. Morning blood pressure surge is associated with the severity of stable coronary artery disease in hypertensive patients. *Clinical and Experimental Hypertension.* 2021;43:334–40. DOI: https://doi.org/ 10.1080/10641963.2021.1883050
5. Sogunuru GP, Kario K, Shin J, Chen CH, Buranakitjaroen P, Chia YC, et al. Morning surge in blood pressure and blood pressure variability in Asia: Evidence and statement from the HOPE Asia Network. *Journal of Clinical Hypertension.* 2019;21:324. DOI: https://doi.org/10.1111/JCH.13451
6. Kanishcheva OV. Modern aspects of short-term variability of blood pressure in hypertension. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series «Medicine».* 2022;45:82–96. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2022-45-09
7. Rosei EA, Chiarini G, Rizzoni D. How important is blood pressure variability? *European Heart Journal, Supplements.* 2020;22:E1–6. DOI: https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/SUAA061
8. Palatini P, Saladini F, Mos L, Fania C, Mazzer A, Cozzio S, et al. Short-term blood pressure variability outweighs average 24-h blood pressure in the prediction of cardiovascular events in hypertension of the young. *Journal of Hypertension.* 2019;37:1419–26. DOI: https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002074
9. Renna NF, Ramirez JM, Murua M, Bernasconi PA, Repetto JM, Verdugo RA. Morning blood pressure surge as a predictor of cardiovascular events in patients with hypertension. *Blood Pressure Monitoring.* 2023;28:149–57. DOI: https://doi.org/10.1097/MBP.0000000000000641
10. Stergiou GS, Palatini P, Parati G, O'Brien E, Januszewicz A, Lurbe E. 2021 European Society of Hypertension practice guidelines for office and out-of-office blood pressure measurement. *Journal of Hypertension.* 2021;39:1293–302. DOI: https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002843
11. Schober P, Schwarte LA. Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. *Anesthesia and Analgesia.* 2018;126:1763–8. DOI: https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864
12. Mancia G, Kreutz R, Brunström M, Burnier M, Grassi G, Januszewicz A, et al. 2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension Endorsed by the European Renal Association (ERA) and the International Society of Hypertension. *Journal of Hypertension.* 2023. DOI: https://doi.org/10.1097/hjh.0000000000003480

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати потребують подальших досліджень для оцінки впливу різних схем комбінованої гіпотензивної терапії на ВАР АТ та його циркадний ритм.

Prospects for further research

The obtained results require further studies to evaluate the effect of different schemes of combined antihypertensive treatment on blood pressure variability and its circadian rhythm.

Конфлікт інтересів

Автори 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 предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Conflict of interest

The authors certify that there is no actual or potential conflict 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

Робота не має фінансування.

Funding information

The work has no funding.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Тихонова Тетяна Михайлівна – доктор медичних наук, професор кафедри внутрішньої медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: tmtykhonova@karazin.ua
моб.: +38 (095) 163-29-86
Внесок автора: *концепція та дизайн дослідження; аналіз та інтерпретація даних; редагування тексту, доопрацювання та остаточне затвердження статті.*

Лисенко Наталія Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри внутрішньої медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: n.v.lysenko@karazin.ua
моб.: +38 (093) 288-30-03
Внесок автора: *збір та аналіз інформації; аналіз та інтерпретація даних; написання тексту статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Tykhonova Tetiana Mykhaylivna – Doctor of Medical Sciences, Full Professor of the Department of Internal Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: tmtykhonova@karazin.ua
tel.: +38 (095) 163-29-86
Author's contribution: *research concept and design; data analysis and interpretarion; edition and critical revision of the article; final approval of the article.*

Lysenko Nataliia Volodymyrivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Internal Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: n.v.lysenko@karazin.ua
tel.: +38 (093) 288-30-03
Author's contribution: *collection and/or assembly of data; data analysis and interpretation; writing the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 18.06.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 20.08.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 366–386
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):366–386

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-08
УДК: 641.528+616.1+616-77+616-089.843

Кріомедичні біотехнології як ключ до ефективної децелюляризації при створенні скафолдів для судинної трансплантації

Шевченко Є.В.[1], https://orcid.org/0000-0001-9383-4423, e-mail: evgeniy.v.shevchenko@karazin.ua
Гладких Ф.В.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Матвєєнко М.С.[1], https://orcid.org/0000-0002-0388-138X, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

[1]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Cryomedical technologies as a key to effective decellularization in the creation of scaffolds for vascular transplantation

Shevchenko Ye.V.[1], https://orcid.org/0000-0001-9383-4423, e-mail: evgeniy.v.shevchenko@karazin.ua
Hladkykh F.V.[1,2], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Matvieienko M.S.[1], https://orcid.org/0000-0002-0388-138X, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

[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:

децелюляризація, судинний скафолд, заморожування-відтавання, позаклітинний матрикс, тканинно-інженерний судинний трансплантат, мезенхімальні стовбурові клітини, цитоліз.

Для кореспонденції:

Шевченко Євген Віталійович
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: evgeniy.v.shevchenko@karazin.ua

© Шевченко Є.В., Гладких Ф.В., Матвєєнко М.С., 2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Серцево-судинні захворювання (ССЗ) входять до трійки лідерів серед причин смерті у світі. В Європі 3,9 млн смертей щорічно пов'язані з ССЗ, з яких 1,8 млн – серед громадян країн Європейського Союзу (ЄС). Загальні витрати на лікування хворих на ССЗ у країнах ЄС становлять 210 млрд євро на рік. Основною тактикою лікування хворих на пізніх стадіях ССЗ досі залишається шунтування. Кратне збільшення попиту на судинні трансплантати в останнє десятиліття, особливо судини малого калібру, при процедурах серцево-судинного шунтування, відсутність джерела донорської судини та недоліки штучних протезів роблять тканинну інженерію судинних трансплантатів галуззю підвищеного попиту.
Мета роботи – охарактеризувати сучасні підходи до створення децелюляризованих судинних скафолдів за даними відкритих джерел інформації.
Матеріали та методи. Підбір публікацій виконано за базами даних PubMed, Clinical Key Elsevier, Cochrane Library, eBook Business Collection та ін., у яких висвітлювались відомості про сучасні підходи до створення децелюляризованих скафолдів. На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: децелюляризація, позаклітинний матрикс, скафолд. 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. Критеріями включення публікацій до вибірки, яка підлягала контент-аналізу, були такі: 1) висвітлення сучасних відомостей щодо створення децелюляризованих скафолдів; 2) відповідність досліджень ключовим засадам доказової медицини; 3) відкритий доступ до повнотекстової статті.
Результати та їх обговорення. Перша спроба створити замінник кровоносної судини методами тканинної інженерії виконана Weinberg C.B. & Bell E. у 1986 р. Біологічні каркаси, що складаються з позаклітинного матриксу (ПКМ), зазвичай використовуються для різноманітних реконструктивних хірургічних операцій і все частіше використовуються у стратегіях регенеративної медицини для заміни тканин та органів. ПКМ – це складна мережа макромолекул, які забезпечують відповідне локальне мікрооточення для виживання та активності клітин *in vivo*, а також впливають на клітинну форму, метаболізм, функцію, міграцію, проліферацію та диференціювання. Скафолд, в свою чергу, можна визначити як тривимірну платформу, необхідну для виконання дій, починаючи від взаємодії клітини

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

та біоматеріалу, клітинної адгезії до контрольованої швидкості біодеградації, яка відповідає регенерації тканин. Децелюляризація – це метод видалення клітинних компонентів з органів або тканин для створення безклітинного каркасу, що складається з ПКМ тканин, здатного забезпечити біоміметичне мікрооточення. Фізико-хімічні сигнали та біологічна ефективність ПКМ скафолдів децелюляризованого ПКМ можуть підтримуватися після децелюляризації та забезпечують, таким чином, субстрат для механічної підтримки та біологічний 3D-носій для наступної рецелюляризації. Складність та тривалість протоколів децелюляризації зазвичай пропорційні ступеню геометричного та біологічного збереження, бажаного для тканини після обробки.

Висновки. Зростання захворюваності на ССЗ та потреба в їх хірургічному лікуванні обґрунтували необхідність, серед іншого, створення штучних малокаліберних серцево-судинних трансплантатів – замінників кровоносних судин, особливо малого калібру (< 6 мм). Різні джерела, включно з трупами людей і тварин, були ідентифіковані як джерела нативних судин для децелюляризації. Створення клітинного патерну – це нова тенденція, яка активно дотримується і безпосередньо пропонує просторовий контроль ангіогенезу, точно імітуючи природнє середовище. Кріоконсервація є однією з найпоширеніших процедур зберігання трансплантатів. Процес заморожування-відтавання ефективно лізує клітини в тканинах і органах, та є одним з найперспективніших підходів до децелюляризації при створенні судинних скафолдів.

Для цитування:

Шевченко Є.В., Гладких Ф.В., Матвєєнко М.С. Кріомедичні біотехнології як ключ до ефективної децелюляризації при створенні скафолдів для судинної трансплантації. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 366–386. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-08

Key words:

decellularization, vascular scaffold, freezing-thawing, extracellular matrix, tissue-engineered vascular graft, mesenchymal stem cells, cytolysis.

For correspondence:

Shevchenko Yevghen Vitaliyovych
V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Department of Surgical Diseases of the School of Medicine;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: evgeniy.v.shevchenko@karazin.ua

© *Shevchenko Ye.V., Hladkykh F.V., Matvieienko M.S., 2024*

ABSTRACT

Background. Cardiovascular diseases (CVDs) rank among the top three causes of death worldwide. In Europe, 3.9 million deaths annually are attributed to CVDs, with 1.8 million occurring among citizens of European Union (EU) countries. The total cost of treating patients with CVDs in EU countries amounts to €210 billion per year. Currently, the primary treatment strategy for patients with advanced stages of CVD remains bypass surgery. A significant increase in demand for vascular grafts over the past decade, particularly small-caliber vessels for cardiovascular bypass procedures, combined with a shortage of donor vessels and the limitations of artificial prostheses, makes the tissue engineering of vascular grafts a high-demand field.

Purpose – to characterize modern approaches to creating decellularized vascular scaffolds based on data from open sources.

Materials and Methods. The selection of publications was conducted using databases such as PubMed, Clinical Key Elsevier, Cochrane Library, eBook Business Collection, and others, focusing on contemporary methods for creating decellularized scaffolds. The first stage involved searching for literature sources using keywords: decellularization, extracellular matrix, scaffold. In the second stage, article abstracts were reviewed, and publications not meeting the study criteria were excluded. The third stage involved examining the full texts of selected articles for compliance with inclusion criteria and research relevance. Inclusion criteria for publications subjected to content analysis included: 1) coverage of current information on the creation of decellularized scaffolds; 2) alignment of studies with key principles of evidence-based medicine; 3) open access to the full-text article.

Results. The first attempt to create a blood vessel substitute using tissue engineering methods was made by Weinberg C.B. & Bell E. in 1986. Biological scaffolds, composed of extracellular matrix (ECM), are commonly used for various reconstructive surgical procedures and are increasingly employed in regenerative medicine strategies for tissue and organ replacement. ECM is a complex network of macromolecules that provides an appropriate local microenvironment for cell survival and activity *in vivo*, influencing cell shape, metabolism, function, migration, proliferation, and differentiation. A scaffold, in turn, can be defined as a three-dimensional platform necessary for actions ranging from cell-biomaterial interaction and cell adhesion to controlled biodegradation rates that correspond to tissue regeneration. Decellularization is a method for removing cellular components from organs or tissues to create an acellular scaffold composed of tissue ECM capable of providing a biomimetic microenvironment. The physicochemical signals and biological efficacy of ECM scaffolds can be maintained after decellularization, thus providing a substrate for mechanical support and a biological 3D carrier for subsequent recellularization. The complexity and duration of decellularization protocols are generally proportional to the degree of geometric and biological preservation desired for the tissue after processing.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Conclusions. The rising incidence of CVDs and the need for surgical intervention have underscored the necessity, among other things, of creating artificial small-caliber vascular grafts – substitutes for blood vessels, especially those under 6 mm in diameter. Various sources, including human and animal cadavers, have been identified as sources of native vessels for decellularization. The creation of a cellular pattern is a new trend that is actively pursued, directly offering spatial control over angiogenesis, closely mimicking the natural environment. Cryopreservation is one of the most common procedures for graft storage. The freezing-thawing process effectively lyses cells in tissues and organs and is one of the most promising approaches to decellularization in the development of vascular scaffolds.

For citation:

Shevchenko YeV, Hladkykh FV, Matvieienko MS. Cryomedical biotechnologies as a key to effective decellularization in the creation of scaffolds for vascular transplantation. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):366–386. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-08

ВСТУП

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) є основною причиною смерті в промислово розвинутих країнах, та входять до трійки лідерів у світі. В Європі 3,9 млн смертей щорічно (1,8 млн лише в Європейському Союзі (ЄС)) пов'язані з ССЗ, тоді як загальні витрати для ЄС обчислюються в 210 млрд євро на рік [1]. На пізніх стадіях ССЗ основною тактикою лікування досі залишається артеріальне шунтування – забір кровоносної судини з іншої частини тіла та імплантація її до пошкодженої артерії [2]), оскільки жоден із сучасних методів виготовлення синтетичних судинних трансплантатів не досяг достатньої ефективності для створення артерій малого калібру. Хоча аутологічні судини залишаються «золотим стандартом» для трансплантатів малого калібру, неможливість використання аутотрансплантатів через патології судин або попередні хірургічні втручання може обмежити їх клінічне застосування. З іншого боку, обмежена доступність гомотрансплантатів через відсутність донорів тканин іноді робить імплантацію живих кровоносних судин складним завданням [1, 3, 4]. Кратне збільшення попиту на судинні трансплантати в останнє десятиліття, особливо судини малого калібру, в процедурах серцево-судинного шунтування, відсутність відповідного джерела донорської судини та недосконаліть синтетичних протезів робить тканинну інженерію судинних трансплантатів галуззю підвищеного попиту [5].

Окрім розмірів, суттєвим викликом є біосумісність імплантату та його здатність інтегруватися з тканиною «господаря», інакше може ініціюватись гостре запалення, яке призведе до відторгнення імплантату [2, 6].

У той же час є важливим збереження функціональної спроможності кровоносних судин, адже вони мають протистояти широкому діапазону тисків і напруг зсуву, тромбозу в базових умовах, регулювати кровотік та проникність, і також відіграють критичну роль в імунологічних реакціях [7].

Як відомо, кровоносні судини різняться за розміром та поділяються на мікросудини (< 1 мм), дрібні судини (1–6 мм) та великі судини (> 6 мм у діаметрі) [8]. Інженерія судинної тканини покликана трансформувати сучасне уявлення про терапевтичні підходи до лікування ССЗ для розробки нових терапевтичних підходів для широкого спектра клінічних розладів.

INTRODUCTION

Cardiovascular diseases (CVDs) are the leading cause of death in industrialized countries and rank among the top three globally. In Europe, approximately 3.9 million deaths annually (1.8 million in the European Union (EU) alone) are attributed to CVDs, with total costs for the EU estimated at €210 billion per year [1]. In the later stages of CVDs, arterial bypass grafting remains the primary treatment strategy; this involves harvesting a blood vessel from another part of the body and implanting it into the affected artery [2]. No current methods for manufacturing synthetic vascular grafts have achieved sufficient efficacy for creating small-caliber arteries. Although autologous vessels are considered the «gold standard» for small-caliber grafts, the inability to use autografts due to vascular pathologies or previous surgical interventions may limit their clinical application. Conversely, the limited availability of homografts due to a shortage of tissue donors can sometimes complicate the implantation of living blood vessels [1, 3, 4]. The significant increase in demand for vascular grafts over the past decade, particularly small-caliber vessels in cardiovascular bypass procedures, combined with the lack of a suitable source of donor vessels and the shortcomings of synthetic prosthetics, has made t he field of tissue engineering for vascular grafts a high-demand area [5].

In addition to size, a significant challenge is the biocompatibility of the implant and its ability to integrate with the host tissue; otherwise, acute inflammation may be initiated, leading to implant rejection [2, 6].

At the same time, it is crucial to maintain the functional capacity of blood vessels, as they must withstand a wide range of pressures and shear stresses, regulate blood flow and permeability, resist thrombosis under basal conditions, and play a critical role in immunological responses [7].

As is well known, blood vessels vary in size and are classified into microvessels (< 1 mm), small vessels (1–6 mm), and large vessels (> 6 mm in diameter) [8]. Vascular tissue engineering aims to transform current therapeutic approaches to CVD treatment by developing new therapeutic strategies for a wide range of clinical disorders. This field encompasses the creation of biological substitutes that can restore, improve, or maintain tissue function. Its goal is to develop a scaffold that

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Галузь тканинної інженерії включає розробку біологічних замінників, які можуть відновлювати, покращувати або підтримувати функцію тканин. Її мета полягає в тому, щоб розробити каркас, який зможе імітувати всі характеристики природніх судин [7]. Тут з'являється концепція регенерації тканини, згідно з якою біоміметичне 3D-мікрооточення полегшує інфільтрацію клітин, їх прикріплення та проліферацію, культивуючи сконструйований орган [2].

Однією з фундаментальних перешкод, з якою стикається галузь тканинної інженерії, є відновлення мікроциркуляторного русла до тканин, товщиною понад 100–200 мікрон для підтримки дифузійного транспорту поживних речовин. Створення перфузійної мікросудинної мережі має вирішальне значення як для лікування ішемічної хвороби, так і для біоінженерного конструювання органів для трансплантації [8].

За останні роки децелюляризовані тканини, поряд із природними та синтетичними гідрогелями та біоінертними полімерами, перетворилися на нову повноцінну платформу для створення тканинно-інженерних конструкцій – скафолдів [9–11]. Позаклітинний матрикс (ПКМ) кожної тканини забезпечує унікальне тканинно-специфічне мікрооточення для резидентних клітин зі структурою та біохімічними сигналами, необхідними для їх функціонування.

Встановлено, що децелюляризований ПКМ (Д-ПКМ) впливає на диференціацію клітин. Тому можна очікувати, що децелюляризовані тканини мають справляти певний вплив на диференціацію клітин залежно від тканини, з якої був виготовлений матеріал [9].

Незважаючи на очевидні переваги використання децелюляризованих тканин як основного матеріалу або доповнення до скафолдів, існує низка перешкод, які обмежують його застосування, наприклад, наявність активних компонентів, що залишилися в децелюляризованій тканині, може бути різною, вона також може змінюватися в ході подальшої обробки, стерилізації, консервації та інших процесів. Хоча повна децелюляризація ніколи не буде досягнута, і завжди залишається частка клітинних компонентів, метою є розробити оптимізований протокол, який максималізує видалення клітин, інакше залучення макрофагів і спалах імунного відторгнення буде неминучим. Крім того, всі етапи обробки мають бути деталізовані та реалізовані так, щоб не пошкодити ультраструктуру, механічні властивості та максимально зберегти сигнальні шляхи [2, 12, 13]. Точний склад децелюляризованих тканин, який сприяє певній поведінці клітин, регенерації тканин та ангіогенезу, ще не до кінця встановлений, а відповідні клітинні та молекулярні механізми також варто вивчити разом із шляхами імунного відторгнення *in vivo* [9, 11].

На сьогоднішній день методи децелюляризації поділяють на три групи – фізичні, хімічні та біологічні (ферментативні) [14]. Процес децелюляризації передбачає досягнення точного балансу між цілеспрямованим видаленням клітинного та ядерного матеріалу, що міститься в існуючих судинних тканинах, зводячи до мінімуму пошкодження складових ПКМ [15, 16]. Цього можна досягти шляхом обробки судинних тканин хімічними агентами, такими як детергенти та спирти, біологічними агентами, такими як ферменти

can mimic all the characteristics of natural vessels [7]. Here, the concept of tissue regeneration emerges, wherein a biomimetic 3D microenvironment facilitates cell infiltration, adhesion, and proliferation, ultimately cultivating the engineered organ [2].

One of the fundamental obstacles faced by the field of tissue engineering is the restoration of microcirculatory flow to tissues thicker than 100–200 microns, necessary for supporting the diffusion of nutrients. The creation of a perfusable microvascular network is crucial not only for the treatment of ischemic disease but also for bioengineering organ constructs for transplantation [8].

In recent years, decellularized tissues, along with natural and synthetic hydrogels and bioinert polymers, have evolved into a robust platform for creating tissue-engineered constructs – scaffolds [9, 10, 11]. The extracellular matrix (ECM) of each tissue provides a unique tissue-specific microenvironment for resident cells, offering the structure and biochemical signals necessary for their function.

It has been established that decellularized ECM (dECM) influences cell differentiation. Therefore, one can expect that decellularized tissues should exert a specific influence on cell differentiation depending on the type of tissue from which the material is derived [9].

Despite the apparent advantages of using decellularized tissues as a primary material or as an adjunct to scaffolds, several obstacles limit their application. For instance, the presence of residual active components in decellularized tissues may vary, and this can change during subsequent processing, sterilization, preservation, and other procedures. While complete decellularization will never be achieved – leaving a fraction of cellular components – the goal is to develop an optimized protocol that maximizes cell removal; otherwise, the recruitment of macrophages and the onset of immune rejection will be inevitable. Moreover, all processing steps must be meticulously detailed and implemented to avoid damaging the ultrastructure, mechanical properties, and to preserve signaling pathways [2, 12, 13]. The precise composition of decellularized tissues that contributes to specific cell behavior, tissue regeneration, and angiogenesis has not yet been fully established, and the relevant cellular and molecular mechanisms should be studied alongside the pathways of immune rejection *in vivo* [9, 11].

To date, decellularization methods are classified into three groups: physical, chemical, and biological (enzymatic) [14]. The decellularization process involves achieving a precise balance between the targeted removal of cellular and nuclear material contained within existing vascular tissues while minimizing damage to the components of the ECM [15, 16]. This can be achieved by treating vascular tissues with chemical agents such as detergents and alcohols, biological agents such as enzymes and chelating compounds, as well as physical methods including freeze-thaw cycles, hydrostatic pressure, and non-thermal irreversible electroporation [17]. Successful decellularization allows vascular scaffolds to retain their biomechanical properties while simultaneously reducing their immunogenicity [17–20].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

та хелатні сполуки, а також фізичними методами, включаючи цикли заморожування-відтавання, гідростатичний тиск та нетермічну незворотну електропорацію [17]. Успішна децелюляризація дозволяє судинним каркасам зберігати свої біомеханічні властивості, одночасно знижуючи їхню імуногенність [17–20].

Мета роботи – охарактеризувати сучасні підходи до створення децелюляризованих судинних скафолдів за даними відкритих джерел інформації.

Objective – characterize modern approaches to creating decellularized vascular scaffolds based on information from open sources.

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 відомості про сучасні підходи до створення децелюляризованих скафолдів.

На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: децелюляризація, позаклітинний матрикс, скафолд.

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.

Критеріями включення публікацій до вибірки, яка підлягала контент-аналізу, були такі:

1) висвітлення сучасних відомостей щодо створення децелюляризованих скафолдів;

2) відповідність досліджень ключовим засадам доказової медицини;

3) відкритий доступ до повнотекстової статті.

MATERIALS AND METHODS

The selection of publications was conducted using the following 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/), which provided information on modern approaches to creating decellularized scaffolds.

In the first stage, a literature search was performed using keywords: decellularization, extracellular matrix, scaffold.

In the second stage, the abstracts of the articles were reviewed, and publications that did not meet the research criteria were excluded.

In the third stage, full texts of the selected articles were examined for compliance with inclusion criteria and relevance to the studies.

The criteria for including publications in the sample subjected to content analysis were as follows:

1) coverage of current information regarding the creation of decellularized scaffolds;

2) adherence of the studies to the key principles of evidence-based medicine;

3) open access to the full-text article.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Позаклітинний матрикс та методи децелюляризації

У 1947 р. Poel W.E. провів перше дослідження грубої техніки децелюляризації м'язової тканини [21]. В той же час, у 1950-х роках вперше з'явилися тканинно-інженерні судинні трансплантати, призначені для заміни оклюзованих артеріальних судин після хірургічних ускладнень, які складались виключно з безклітинних синтетичних полімерів. Вони мали перевагу в тому, що дозволяли зменшити імунологічне відторгнення після трансплантацій великих судин тваринного походження. Однак, незважаючи на досягнення у фармакології, матеріалознавстві та виробництві пристроїв, ці синтетичні судини не суттєво знизили загальну смертність та захворюваність [22].

У 1979 р. Hjelle J.T. та співавт. [23] повідомили про досвід біосинтезу матриксу базальної мембрани ізольованими нирковими клубочками в експерименті. У 1995 р. для відновлення ахілового сухожилка були виготовлені інтактні безклітинні матриці підслизової оболонки тонкої кишки [24].

Перша спроба створити замінник кровоносної судини тканинною інженерією була зроблена Weinberg C.B. & Bell E. у 1986 р. [20].

RESULTS AND DISCUSSION

Extracellular matrix and decellularization methods

In 1947, Poel W.E. conducted the first study on the coarse technique of decellularization of muscle tissue [21]. At the same time, in the 1950s, the first tissue-engineered vascular grafts emerged, designed to replace occluded arterial vessels following surgical complications, composed exclusively of acellular synthetic polymers. These grafts had the advantage of reducing immunological rejection after the transplantation of large vessels of animal origin. However, despite advancements in pharmacology, materials science, and device manufacturing, these synthetic vessels did not significantly reduce overall mortality and morbidity [22].

In 1979, Hjelle J.T. et al. [23] reported on the experience of biosynthesizing the basal membrane matrix using isolated renal glomeruli in an experiment. In 1995, intact acellular matrices of the submucosa of the small intestine were produced for the restoration of the Achilles tendon [24].

The first attempt to create a blood vessel substitute using tissue engineering was made by Weinberg C.B. & Bell E. in 1986 [20].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Біологічні каркаси, що складаються з ПКМ, зазвичай використовуються для різноманітних реконструктивних хірургічних операцій і все частіше застосовуються у заходах регенеративної медицини для заміни тканин та органів. ПКМ представляє секретовані продукти резидентних клітин кожної тканини та органа, перебуває в стані динамічної взаємності з цими клітинами у відповідь на зміни в мікрооточенні, і було показано, що надає сигнали, які впливають на клітинну міграцію, проліферацію та диференціацію [17].

Разом із швидким розвитком тканинної інженерії в останні десятиліття біологічні каркаси викликали значний інтерес завдяки своїй високій біосумісності та біоактивності, а також помірним механічним характеристикам для підтримки клітин. Серед різних типів каркасів у центрі уваги знаходяться каркаси Д-ПКМ, які належать до біоматеріалів, утворених органами/тканинами людини або тварини з видаленням імуногенних клітинних компонентів за допомогою децелюляризаційних технологій [14].

ПКМ – це складна мережа макромолекул, які забезпечують відповідне локальне мікрооточення для виживання та активності клітин in vivo, а також впливають на клітинну форму, метаболізм, функцію, міграцію, проліферацію та диференціювання [25–27].

Скафолд, в свою чергу, можна визначити як тривимірну платформу, необхідну для виконання функцій, починаючи від взаємодії клітини та біоматеріалу, клітинної адгезії до контрольованої швидкості біодеградації, яка відповідає регенерації тканин [5, 28]. Поняття скафолд значно ширше, ніж ПКМ, оскільки вміщує як платформи природнього походження (власне ПКМ), так і полімерні конструкції. Характеристики полімеру залежать від хімічного складу та структурної орієнтації його складових молекул, які, у свою чергу, відображають його функціональні аспекти. Вибір відповідного полімерного біоматеріалу для каркасів залежить від кінцевого використання. Початкові судинні протези використовували полімери, які не розкладалися, такі як спінений політетрафторетилен (тефлон) та дакрон (поліетилентерефталат) [5].

Вважається, що застосування біоінженерних скафолдів може досягти величезного потенціалу для регенерації тканин. На сьогодні вже впроваджено у практику широке застосування цілої низки тканинно-інженерних скафолдів (табл. 1).

Biological scaffolds made from ECM are commonly used for various reconstructive surgical procedures and are increasingly applied in regenerative medicine for tissue and organ replacement. The ECM represents the secreted products of resident cells from each tissue and organ, existing in a state of dynamic reciprocity with these cells in response to changes in the microenvironment, and has been shown to provide signals that influence cell migration, proliferation, and differentiation [17].

With the rapid development of tissue engineering in recent decades, biological scaffolds have attracted significant interest due to their high biocompatibility and bioactivity, as well as their moderate mechanical properties to support cells. Among various types of scaffolds, dECM scaffolds are of particular focus, as they are biomaterials derived from human or animal organs/tissues with the removal of immunogenic cellular components using decellularization technologies [14].

The ECM is a complex network of macromolecules that provides an appropriate local microenvironment for cell survival and activity in vivo, influencing cell shape, metabolism, function, migration, proliferation, and differentiation [25–27].

The scaffold, in turn, can be defined as a three-dimensional platform necessary for functions ranging from cell-biomaterial interaction and cell adhesion to controlled rates of biodegradation that correspond to tissue regeneration [5, 28]. The concept of a scaffold is significantly broader than that of ECM, as it includes both naturally derived platforms (i.e., ECM itself) and polymer constructs. The characteristics of the polymer depend on the chemical composition and structural orientation of its constituent molecules, which in turn reflect its functional aspects. The selection of an appropriate polymeric biomaterial for scaffolds depends on the intended application. Early vascular prosthetics utilized non-biodegradable polymers such as expanded polytetrafluoroethylene (PTFE) and Dacron (polyethylene terephthalate) [5].

It is believed that the application of bioengineered scaffolds can achieve tremendous potential for tissue regeneration. To date, a wide range of tissue-engineered scaffolds has already been implemented in practice (Table 1).

Таблиця 1. Типи скафолдів, які використовуються у тканинній інженерії (адаптовано за [29])
Table 1. Types of scaffolds used in tissue engineering (adapted from [29])

Типи скафолдів / Types of Scaffolds			
Синтетичний (полімерний) / Synthetic Scaffolds		Природний / Natural Scaffolds	
На основі полімеру, що розкладається Based on Degradable Polymer	На основі полімеру, що не розкладається Based on Non-Degradable Polymer	На основі полімеру, що розкладається Based on Degradable Polymer	Децелюляризований позаклітинний матрикс Decellularized Extracellular Matrix
– полімолочна кислота, Poly(lactic acid), – полігліколева кислота, Poly(glycolic acid), – полі-ε-капролактон, Poly(ε-Caprolactone), – полігліцерин себакат та ін. Poly(glycerol sebacate) etc.	– поліуретан, Polyurethane, – синтетичний еластин, Synthetic elastin, – поліетилентерефталат, Polyethylene terephthalate, – політетрафторетилен та ін. Expanded polytetrafluoroethyleneetc.	– колаген, Collagen, – еластин, Elastin, – фібрин, Fibrin, – хітозан/CS, Chitosan/CS, – шовковий фіброїн та ін. Silk fibroin, etc.	отримують шляхом децелюляризації органів/тканин Obtained by decellularization of organs/tissues

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

«Золотим стандартом» серед скафолдів по праву вважається Д-ПКМ – це тип каркасу, який складається переважно з ПКМ та є тривимірним (3D) структурним каркасом, що містить позаклітинні макромолекули (колаген, еластин, фібронектин і ламінін) та матрицелюлярні білки [14, 29–33].

На сьогоднішній день світова біоінженерія має успішний досвід виготовлення скафолдів ПКМ з підслизового матриксу тонкої кишки [34], кровоносних судин, шкіри [15, 35, 36], нервів [37], скелетних м'язів [38] і тканин сечового міхура [39], а каркаси ПКМ, які були отримані з різних тканин і органів, мають різні компоненти та ультраструктурні властивості [26].

Децелюляризація – це метод видалення клітинних компонентів з органів або тканин для створення безклітинного каркасу, що складається з ПКМ тканин, здатного забезпечити біоміметичне мікрооточення [14, 40, 41].

Найефективніші агенти для децелюляризації кожної тканини та органа залежатимуть від багатьох факторів, включаючи клітинність тканини (наприклад, печінка проти сухожилків), щільність (наприклад, дерма проти жирової тканини), вміст ліпідів (наприклад, мозок проти сечового міхура), і товщина (наприклад, дерма проти перикарда) [17]. Слід розуміти, що кожен агент і метод видалення клітин змінюватиме склад ПКМ і спричинить певний ступінь порушення ультраструктури. Мінімізація цих небажаних ефектів, а не повне уникнення, є метою вдосконалення ефективності децелюляризації [17].

На сьогоднішній день розроблена низка методів децелюляризації для реконструкції різних типів органів та тканин. Загалом методи децелюляризації поділяють на три основні групи: хімічні, фізичні та біологічні методи, з певними перевагами та недоліками для кожної групи [29, 42].

Огляд методів фізичної децелюляризації наведено в табл. 2.

Фізико-хімічні сигнали та біологічна ефективність ПКМ скафолдів Д-ПКМ можуть підтримуватися після децелюляризації та забезпечують, таким чином, субстрат (табл. 3) для механічної підтримки та біологічний 3D-носій для наступного посіву клітин. Отримана конструкція з посівом клітин на основі каркасів Д-ПКМ вважається ідеальним вибором для регенерації функціональних органів/тканин [14, 43–46]. Такий рецелюляризований Д-ПКМ доцільно імплантувати пацієнтам для тканинної інженерії, включаючи відновлення пошкоджених органів, регенерацію ендогенних тканин та заміну втрачених органів [31].

Хоча методи децелюляризації не здатні видалити 100% клітинного матеріалу, можна кількісно аналізувати клітинні компоненти, такі як дволанцюгова ДНК, мітохондрії або пов'язані з мембраною молекули, такі як фосфоліпіди. Порогова концентрація залишкового клітинного матеріалу в ПКМ, достатня для виклику негативної реакції ремоделювання, не була детально досліджена та може змінюватися залежно від джерела ПКМ, типу тканини, в яку імплантовано ПКМ, та стану імунної системи «господаря» [17].

Ґрунтуючись на результатах досліджень, у яких спостерігалася реакція конструктивного ремоделювання *in vivo* та уникались несприятливі реакції клітин «господаря», Crapo P.M. та співавт. [17] запро-

The «gold standard» among scaffolds is rightly considered dECM, a type of framework predominantly made of ECM that serves as a three-dimensional (3D) structural scaffold containing extracellular macromolecules (collagen, elastin, fibronectin, and laminin) as well as matricellular proteins [14, 29–33].

To date, global bioengineering has successfully produced ECM scaffolds from the submucosal matrix of the small intestine [34], blood vessels, skin [15, 35, 36], nerves [37], skeletal muscles [38], and bladder tissues [39]. These ECM scaffolds derived from various tissues and organs exhibit different components and ultrastructural properties [26].

Decellularization is a method for removing cellular components from organs or tissues to create an acellular scaffold composed of ECM, capable of providing a biomimetic microenvironment [14, 40, 41].

The most effective agents for decellularization of each tissue and organ will depend on numerous factors, including tissue cellularity (e.g., liver vs. tendon), density (e.g., dermis vs. adipose tissue), lipid content (e.g., brain vs. bladder), and thickness (e.g., dermis vs. pericardium) [17]. It is important to understand that each agent and method of cell removal will alter the composition of the ECM and cause some degree of disruption to its ultrastructure. The goal of improving decellularization effectiveness is to minimize these unwanted effects, rather than completely avoid them [17].

To date, a number of decellularization methods have been developed for reconstructing various types of organs and tissues. Generally, decellularization methods can be categorized into three main groups: chemical methods, physical methods, and biological methods, each with specific advantages and disadvantages [29, 42].

An overview of physical decellularization methods is presented in Table 2.

The physicochemical signals and biological effectiveness of dECM scaffolds can be maintained after decellularization, thus providing a substrate (Table 3) for mechanical support and a biological 3D carrier for subsequent cell seeding. The obtained structure, based on dECM scaffolds seeded with cells, is considered an ideal choice for the regeneration of functional organs/tissues [14, 43–46]. Such recellularized dECM is suitable for implantation in patients for tissue engineering, including the restoration of damaged organs, regeneration of endogenous tissues, and replacement of lost organs [31].

Although decellularization methods cannot remove 100% of cellular material, it is possible to quantitatively analyze cellular components such as double-stranded DNA, mitochondria, or membrane-associated molecules like phospholipids. The threshold concentration of residual cellular material in the ECM sufficient to trigger a negative remodeling reaction has not been thoroughly studied and may vary depending on the source of the ECM, the type of tissue into which it is implanted, and the state of the host's immune system [17].

Based on research findings that observed constructive remodeling responses *in vivo* while avoiding adverse host cell reactions, Crapo P.M. et al. [17] pro-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

понували мінімальні критерії ефективної децелюляризації, які включають:

1) < 50 нг дволанцюгової ДНК на мг сухої ваги ПКМ;

2) < 200 bp довжина фрагмента ДНК [48, 49];

3) відсутність видимого ядерного матеріалу в зрізах тканини, забарвлюваних 4′,6-діамідино-2-феніліндол (DAPI) або H&E.

posed minimal criteria for effective decellularization, which include:

1) < 50 ng of double-stranded DNA per mg of dry ECM weight;

2) < 200 bp length of DNA fragments [48, 49];

3) absence of visible nuclear material in tissue sections stained with 4′,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) or H&E.

Таблиця 2. Фізичні методи децелюляризації (адаптовано за [14])
Table 2. Physical methods of decellularization (adapted from [14])

Метод / Method	Механізм / Mechanism	Недоліки / Disadvantages
Цикли заморожування-відтавання Freeze-thaw cycles	Порушує цілісність клітинної мембрани та викликає лізис клітин шляхом утворення внутрішньоклітинних кристалів льоду Disrupt cell membranes and cause cell lysis by forming intracellular ice crystals	Порушення мікроструктури ПКМ кристалами льоду. Потрібна подальша обробка для видалення клітинного вмісту Disrupt ECM microstructure by ice crystals. Require subsequent treatments for the removal of cellular contents
Занурення і збовтування Immersion and agitation	Розрив тканин і клітин, ізоляція клітин від базальних мембран Rupture tissues and cells, and isolate cells from basement membranes	Змінити архітектуру ПКМ. Потрібні оптимальні стандарти механічної сили та часу впливу Alter ECM architecture. Need optimal standards for mechanical force and exposure time
Перфузійна децелюляризація Perfusion	Видалення клітин з ECM сприяє видаленню клітинних компонентів і залишків у природній судинній системі органа Remove cells from ECM and help the removal of cellular components and debris within the organ's natural vasculature	Не можна обробляти тканини без вродженої васкулатури. Складні для роботи перфузійних пристроїв Cannot process tissues without innate vasculature. Sophisticated to operate the perfusion devices
Зішкрібання Scraping	Механічно видаляють клітини з поверхні ПКМ Mechanically remove cells from ECM surface	Пошкодження підлеглих базальних мембран. Необхідні стандарти для контролю механічної сили Damage underlying basement membranes. Need standards for controlling mechanical force
Обробка ультразвуком Sonication	Створює бульбашки акустичної кавітації, викликає ефект напруги зсуву і, таким чином, розриває клітинну мембрану. Полегшує і сприяє проникненню агентів, випромінюючи вібрацію, допомагає видаленню клітинного дебрису Generate acoustic cavitation bubbles, induce shear stress effect, and thus rupture the cell membrane. Ease and assist the penetration of agents by emitting the vibration, and help cellular debris removal	Висока потужність або більша тривалість обробки ультразвуком може порушити основні структурні волокна та спричинити негативний вплив на судинні тканини High power or longer duration of sonication could disrupt the main structural fibers and produce adverse effects on the vascular tissues
Надкритичні рідини Supercritical fluids	Полегшують хімічний вплив і призводять до видалення клітин Facilitate chemical exposure, and lead to cell removal	Ще не широко використовуються Not yet widely used
Градієнт тиску / конвективний потік Pressure gradient / Convective flow	Розрив клітин та допомога в доставці розчинів для витіснення клітинних компонентів і розчинних білків із тканин Burst cells, and aid in the delivery of solutions to force cellular components and soluble proteins out of tissues	Ускладнює проникнення розчинів у ПКМ через постійно високий тиск Make solutions difficult to penetrate ECM due to the constantly high pressure
Герметизація Pressurization	Призводять до лізису клітин Result in cell lysis	Денатурують білки та порушують структуру ПКМ утвореними кристалами льоду. Дорогий в експлуатації Denature the proteins, and disrupt the ECM structure by formed ice crystals. Expensive to operate
Нетермічна необоротна електропорація Electroporation	Викликає утворення мікропор у клітинних мембранах і призводить до лізису клітин Cause micropore formation in cell membranes and lead to cell lysis	Важко обробляти тканини великих розмірів. Використані розчинники можуть бути токсичними Hard to process large-sized tissues. Used solvents can be toxic

Для тонких тканинних шарів, таких як сечовий міхур, кишківник, перикард і амніон, найбільш часто використовуваними методами децелюляризації є заморожування та відтавання, механічне видалення

For thin tissue layers such as the bladder, intestine, pericardium, and amnion, the most commonly used decellularization methods include freezing and thawing, mechanical removal of unwanted layers such as

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

небажаних шарів, таких як м'язи або підслизова оболонка, і відносно короткий вплив детергентів або кислот, які легко видаляються відмиванням (табл. 4). Для більш об'ємних шарів тканин, таких як дерма, може знадобитися більш інтенсивний біохімічний вплив та довший час промивання. Жирові, аморфні органи та тканини, такі як жирова тканина, мозок та підшлункова залоза, зазвичай потребують додавання розчинників ліпідів, таких як спирти [17].

Складність і тривалість протоколу децелюляризації (рис. 1) зазвичай пропорційні ступеню геометричного та біологічного збереження, бажаного для тканини після обробки (наприклад, макроструктури, ультраструктури, білків матриксу та базальної мембрани, факторів росту тощо), особливо для композитних тканин та цілих органів [17].

muscle or submucosa, and relatively short exposure to detergents or acids that can be easily removed by washing (Table 4). For thicker tissue layers such as the dermis, more intensive biochemical treatment and longer washing times may be required. Adipose, amorphous organs, and tissues such as adipose tissue, brain, and pancreas generally require the addition of lipid solvents such as alcohols [17].

The complexity and duration of the decellularization protocol (Figure 1) are generally proportional to the degree of geometric and biological preservation desired for the tissue after processing (e.g., macrostructure, ultrastructure, matrix proteins and basal membrane, growth factors, etc.), especially for composite tissues and whole organs [17].

Таблиця 3. Основні білкові компоненти децелюляризованого позаклітинного матриксу (адаптовано за [14])
Table 3. Major protein components of decellularized extracellular matrix (adapted from [14])

Білок / Protein	Розподіл / Distributions	Функція / Function
Колаген Collagen	Кісткова система та більшість м'яких тканин The skeletal systems and most soft tissues	Забезпечують міцність на розрив, з'єднують каркас тканини/органа, впливають на розташування типів клітин Provide tensile strength, connect the framework of tissue/organ, affect cell types disposition
Еластин Elastin	Більшість м'яких тканин, таких як судинна система та м'язи Most soft tissues, such as vasculature and muscle	Надають еластичність, регулюють механічні властивості, підвищують гемосумісність Provide elasticity, adjust mechanical properties, increase hemocompatibility
Фібронектин Fibronectin	Більшість органів/тканин Most organs/tissues	Регулюють поведінку та функції клітин, направляють морфогенез розгалуження у розвитку складних структур Regulate cell behavior and function, guide branching morphogenesis in the development of complicated structures
Ламінін Laminin	Хрящі, м'язи Cartilage, muscle	Сприяє клітинній адгезії та міграції, забезпечує біоактивні центри для зшивання Promote cell adhesion and migration, provide bioactive sites for cross-linking
Матрицелюлярні білки Matricellular Proteins	Судинна мережа Vasculature	Містить сайти зв'язування для структурних білків ПКМ і рецепторів клітинної поверхні, а також модулює активність специфічних факторів росту Contain binding sites for ECM structural proteins and cell surface receptors, and modulate activities of specific growth factors

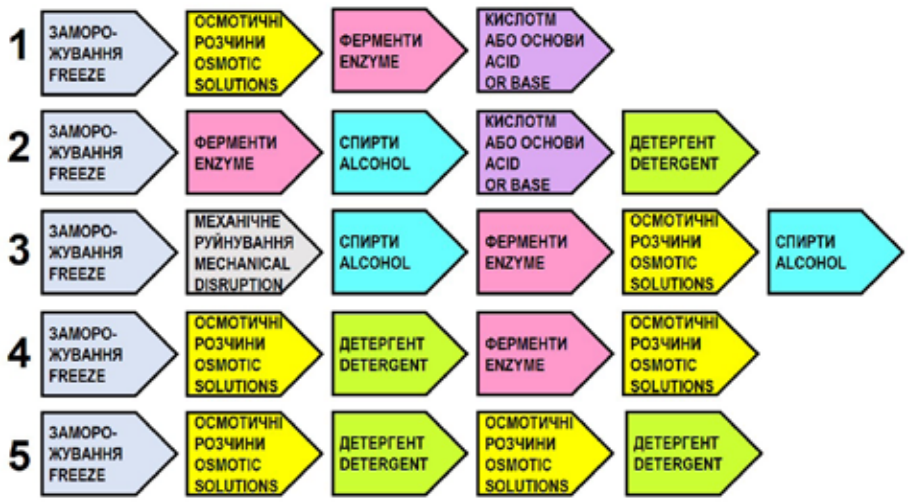


Рис. 1. Етапність протоколів децелюляризації (адаптовано за [17]):
1 – перикард, 2 – дерма, 3 – жирові, аморфні тканини, 4 – трахея, 5 – печінка
Fig. 1. Steps of decellularization protocols (adapted from [17]):
1 – pericardium, 2 – dermis, 3 – adipose, amorphous tissues, 4 – trachea, 5 – liver

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 4. Хімічні та біологічні методи децелюляризації (адаптовано за [17])
Table 4. Chemical and biological methods of decellularization (adapted from [17])

Агент / Agent	Спосіб дії / Mode of action	Вплив на ПКМ / Effects on ECM
1	2	3
ХІМІЧНІ АГЕНТИ / CHEMICAL AGENTS		
Кислоти та основи Acids and bases	Розчиняють цитоплазматичні компоненти клітин, руйнують нуклеїнові кислоти, мають тенденцію до денатурації білків Solubilizes cytoplasmic components of cells, disrupts nucleic acids, tend to denature proteins	Можуть пошкодити колаген, глікозаміноглікани (ГАГ) та фактори росту May damage collagen, glycosaminoglycans (GAG), and growth factors
Гіпотонічні та гіпертонічні розчини Hypotonic and hypertonic solutions	Лізис клітин шляхом осмотичного шоку порушує взаємодію ДНК-білка Cell lysis by osmotic shock, disrupt DNA-protein interactions	Ефективно лізує клітини, але не ефективно видаляє клітинні залишки Effectively lyses cells, but does not effectively remove cellular residues
Неіонні детергенти Non-ionic detergents	Порушують взаємодію ДНК-білка, порушують взаємодію ліпід-ліпід та ліпід-білок і, меншою мірою, взаємодію білок-білок Disrupt DNA-protein interactions, disrupt lipid-lipid and lipid-protein interactions and to a lesser degree protein-protein interactions	
Тритон X-100 Triton X-100		Різні результати за ефективністю, що залежить від тканини, більш ефективне видалення клітин із тонких тканин, деяке порушення ультраструктури та видалення ГАГ, менш ефективний, ніж додецилсульфат натрію Mixed results with efficacy dependent on tissue, more effective cell removal from thin tissues, some disruption of ultrastructure and removal of GAG, less effective than sodium dodecyl sulfate (SDS)
Іонні детергенти Ionic detergents	Розчиняють клітинні та нуклеїнові мембрани, прагнуть денатурувати білки Solubilize cell and nucleic membranes, tend to denature proteins	
Додецилсульфат натрію Sodium dodecyl sulfate (SDS)		Ефективно видаляє ядерні залишки та цитоплазматичні білки із щільних тканин, має тенденцію порушувати ультраструктуру, видаляє ГАГ та фактори росту та пошкоджує колаген Effectively removes nuclear remnants and cytoplasmic proteins from dense tissues, tends to disrupt ultrastructure, removes GAG and growth factors and damages collagen
Дезоксихолат натрію Sodium deoxycholate		Різні результати за ефективністю, що залежить від товщини тканини, деякого порушення ультраструктури та видалення ГАГ Mixed results with efficacy dependent on tissue thickness, some disruption of ultrastructure and removal of GAG
Тритон X-200 Triton X-200		Ефективніше видаляє клітини з тонких тканин, але з більшим порушенням ультраструктури порівняно з іншими детергентами More effectively removes cells from thin tissues but with greater disruption of ultrastructure compared to other detergents
Цвіттеріонні детергенти Zwitterionic detergents	Виявляють властивості неіонних та іонних детергентів Exhibit properties of non-ionic and ionic detergents	
Цвіттеріонний детергент 3-[(3-холамідапропіл) диметиламоніо]-1-пропансульфонат CHAPS		Ефективно видаляє клітини з легкими порушеннями ультраструктури тонких тканин Effectively removes cells with mild disruption of ultrastructure in thin tissues
Сульфобетаїн-10 і -16 (SB-10, SB-16) Sulfobetaine-10 and -16 (SB-10, SB-16)		Ефективно видаляє клітини з легкими порушеннями ультраструктури тонких тканин Effectively removes cells with mild disruption of ultrastructure in thin tissues

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Продовження таблиці 4
Continuation of the table 4

1	2	3
Розчинники / Solvents		
Спирти Alcohols	Лізис клітин шляхом зневоднення, розчинення та видалення ліпідів Cell lysis by dehydration, solubilize and remove lipids	Ефективно видаляє клітини з щільних тканин та інактивує пірогени, але зшиває і осаджує білки, в тому числі колаген Effectively removes cells from dense dense tissues and inactivates pyrogens, but crosslinks and precipitates proteins, including collagen
Ацетон Acetone	Лізис клітин шляхом дегідратації, розчинення та видалення ліпідів Cell lysis by dehydration, solubilizes and removes lipids	Ефективно видаляє клітини з щільних тканин та інактивує пірогени, але зшиває і осаджує білки, в тому числі колаген Effectively removes cells from dense dense tissues and inactivates pyrogens, but crosslinks and precipitates proteins, including collagen
Трибутилфосфат Tributyl phosphate	Утворює стійкі комплекси з металами, порушує білок-білкові взаємодії Forms stable complexes with metals, disrupts protein-protein interactions	Змішані результати з ефективністю, що залежить від тканини, щільні тканини втрачають колаген, але вплив на механічні властивості є мінімальним Mixed results with efficacy dependent on tissue, dense tissues lost collagen but impact on mechanical properties was minimal
БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ / BIOLOGIC AGENTS		
Ферменти / Enzymes		
Нуклеази Nucleases	Каталізують гідроліз рибонуклеотидних і дезоксирибонуклеотидних ланцюгів Catalyze the hydrolysis of ribonucleotide and deoxyribonucleotide chains	Важко видалити з тканини, може викликати імунну відповідь Difficult to remove from the tissue, could invoke an immune response
Трипсин Trypsin	Розщеплює пептидні зв'язки на С-стороні Arg і Lys Cleaves peptide bonds on the C-side of Arg and Lys	Тривалий вплив може порушити ультраструктуру ПКМ, видаляє компоненти ПКМ, такі як колаген, ламінін, фібронектин, еластин і ГАГ, повільніше видалення ГАГ порівняно з детергентами Prolonged exposure can disrupt ECM ultrastructure, removes ECM constituents such as collagen, laminin, fibronectin, elastin, and GAG, slower removal of GAG compared to detergents
Розчинники Dispase	Розщеплює специфічні пептиди, головним чином фібронектин і колаген IV Cleaves specific peptides, mainly fibronectin and collagen IV	Тривалий вплив може порушити ультраструктуру ПКМ, видаляє такі компоненти ПКМ, як фібронектин і колаген IV Prolonged exposure can disrupt ECM ultrastructure, removes ECM components such as fibronectin and collagen IV
Хелатні агенти (EDTA, EGTA) Chelating Agents (EDTA, EGTA)	Хелатоутворювачі зв'язують іони металів, тим самим порушуючи адгезію клітин до ПКМ Chelating agents bind metallic ions, thereby disrupting cell adhesion to ECM	Зазвичай використовується з ферментативними методами (наприклад, трипсин), але може використовуватися з іншими агентами, неефективними при окремому застосуванні Typically used with enzymatic methods (e.g. trypsin) but can be used with other agents, ineffective when used alone

Варто зазначити, що перед імплантацією або використанням *in vitro* децелюляризовані біологічні скафолди ПКМ необхідно стерилізувати, включаючи депірогенізацію для усунення ендотоксинів і неушкодженої вірусної та бактеріальної ДНК, які можуть бути присутніми. Біологічні каркаси можна стерилізувати за допомогою простих процедур, таких як інкубація в кислотах [50] або розчинниках [51], але такі методи можуть не забезпечити достатнього проникнення або можуть пошкодити ключові компоненти ПКМ [52]. В той же час відомо, що такий метод стерилізації, як вплив етиленоксиду, змінює ультраструктуру та

It is important to note that before implantation or *in vitro* use, decellularized biological scaffolds made of extracellular matrix (ECM) must be sterilized, including depyrogenation to eliminate endotoxins and any intact viral and bacterial DNA that may be present. Biological scaffolds can be sterilized using simple procedures, such as incubation in acids [50] or solvents [51], but such methods may not ensure adequate penetration or could damage key ECM components [52]. At the same time, it is known that sterilization methods such as ethylene oxide exposure alter the ultrastructure and mechanical properties of the ECM [53, 54].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

механічні властивості ПКМ [53, 54]. Деякі види опромінення можуть викликати цитотоксичність залишкових ліпідів [55] і прискорювати ферментативну деградацію ПКМ [56, 57]. Надкритичний діоксид вуглецю нещодавно досліджувався як альтернативний метод стерилізації ПКМ із багаторазовим зниженням бактеріального та вірусного навантаження, однак цей підхід відносно новий і потребує подальших досліджень [17].

Certain types of irradiation may induce cytotoxicity from residual lipids [55] and accelerate enzymatic degradation of the ECM [56, 57]. Supercritical carbon dioxide has recently been investigated as an alternative method for sterilizing ECM with significant reductions in bacterial and viral load; however, this approach is relatively new and requires further research [17].

Ксеногенні судинні скафолди та можливості кріомедичних біотехнологій

Зростання захворюваності на ССЗ та потреба в їх хірургічному лікуванні обґрунтували необхідність, серед іншого, створення штучних малокаліберних серцево-судинних трансплантатів – замінників кровоносних судин, особливо малого калібру (< 6 мм) [1]. Загалом, кровоносні судини можна охарактеризувати за їх калібром, тобто внутрішнім діаметром (ВД), як макросудини (ВД > 6 мм), дрібні судини (1 < ВД < 6 мм) та мікросудини (ВД < 1 мм). Судини в кожній із цих трьох категорій відрізняються клітинним складом, гістологічною організацією та фізіологічною функцією. Проте, всі три типи кровоносних судин містять неоднорідні, але добре організовані мережі ПКМ, які регулюють функції клітин і тканин і підтримують структурну цілісність судин [58].

Для виконання своїх фізіологічних функцій артерії мають концентричну тришарову структуру, де кожен шар відповідає за незалежну, але важливу функцію: інтима забезпечує антитромбогенний ефект, еластичні платники відповідають за механічну міцність, а адвентиція підтримує структуру [22]. Судини великого та середнього розміру складаються з трьох окремих шарів, кожен із яких має певний тип клітин і ПКМ, що забезпечує кровоносній судині її функціональну архітектуру. Внутрішній шар, tunica intima, оточує просвіт і складається з ендотеліальних клітин, що вистилають базальну мембрану та субендотеліальний шар сполучної тканини (рис. 2).

Xenogenic vascular scaffolds and the opportunities of cryomedical biotechnology

The rise in the incidence of cardiovascular diseases (CVD) and the need for their surgical treatment have justified the necessity, among other things, to create artificial small-caliber cardiovascular grafts – substitutes for blood vessels, especially those with a small diameter (< 6 mm) [1]. In general, blood vessels can be categorized by their caliber, that is, internal diameter (ID), into macrovasculature (ID > 6 mm), small vessels (1 < ID < 6 mm), and microvasculature (ID < 1 mm). The vessels in each of these three categories differ in cellular composition, histological organization, and physiological function. However, all three types of blood vessels contain heterogeneous but well-organized networks of ECM, which regulate the functions of cells and tissues and maintain the structural integrity of the vessels [58].

To perform their physiological functions, arteries have a concentric three-layer structure, where each layer serves an independent yet important function: the intima provides an antithrombotic effect, the elastic layers provide mechanical strength, and the adventitia maintains structure [22]. Large and medium-sized vessels consist of three distinct layers, each containing a specific type of cells and ECM, which provide the blood vessel with its functional architecture. The innermost layer, the tunica intima, surrounds the lumen and consists of endothelial cells lining the basal membrane and the subendothelial layer of connective tissue (Figure 2).

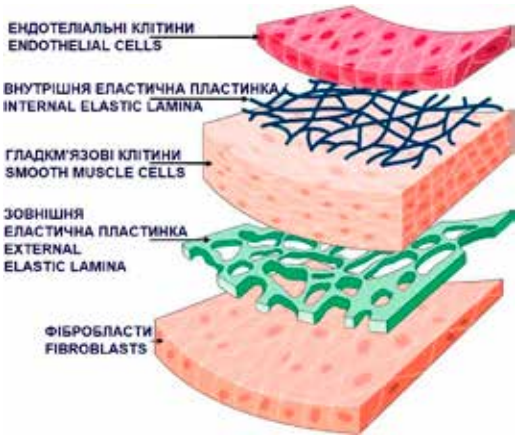


Рис. 2. Шари судинної тканини (адаптовано за [22])
Fig. 2. Layers of vascular tissue (adapted from [22])

Далі слідує середній шар, оболонка середньої оболонки, в якій розташовані клітини гладких м'язів судин та ПКМ, що складаються з колагену-еластину-протеогліканів. Tunica adventitia – це зовнішній шар, де фібробласти вбудовані поздовжньо, у насичену

Following that is the middle layer, the tunica media, which contains smooth muscle cells and ECM made up of collagen, elastin, and proteoglycans. The tunica adventitia is the outer layer, where fibroblasts are embedded longitudinally in collagen and elastin-rich

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

колагеном і еластином та ПКМ і відрізняються від зовнішнього середовища зовнішньою еластичною пластинкою. Капілярна мережа позбавлена цього тришарового малюнка і складається з ендотеліальних клітин, що лежать на базальній мембрані з рідко розподіленими перицитами. Товщина судини, визначена її клітинами та пов'язаною з нею ПКМ, змінюється залежно від артерій і вен. Таким чином, структурні розміри та склад нативної кровоносної судини є дуже неясними, що робить її складним кандидатом у галузі тканинної інженерії. ПСМ кровоносних судин зазвичай відомий під такими термінами, як матрикс або строма [5].

Волокнисті позаклітинні мережі колагену та еластину забезпечують домінуючу механічну реакцію тканини. Ці два класи волокнистих білків є секреторними продуктами тканин та органів, і з цих компонентів колаген є найпоширенішим волокнистим білком й становить до 30% від загальної маси білків ссавців. Білки волокнистої матриці дозволяють тканинам витримувати високі навантаження на розтяг та повторювані навантаження без деформації або розриву. Колагенові волокна мають найбільшу міцність на розтягування та виявляють нелінійні реакції при розтягуванні, порівняно з волокнами еластину та фібронектину, які є набагато більш розтяжними [57, 59].

Різні джерела, включно з трупами людей і тварин, були ідентифіковані як джерела нативних судин для децелюляризації. Однак методи алотрансплантації та ксенотрансплантації можуть знову викликати проблеми, пов'язані з імуногенністю. Ці проблеми, у свою чергу, призведуть до відторгнення алотрансплантатів і ксенотрансплантатів примітивними багатоклітинними організмами за допомогою фагоцитуючих клітин, коагуляційних білків і, можливо, комплементоподібних білків [57, 58].

На сьогоднішній день інженерія судинної тканини зосереджена на конструюванні судин з використанням різних біоматеріалів, клітинних джерел, біомолекул і механічних подразників, які можуть функціонувати у фізіологічних середовищах [60]. Тканинно-інженерні судинні трансплантати можуть інтегрувати, реконструювати, рости та відновлювати судинну стінку після імплантації та створювати відповідні середовища для формування тканини. Їхня велика схожість із нативними судинами забезпечує набагато більш чутливий до гемодинаміки канал, який може краще підтримувати прохідність, уникати імунних реакцій і адаптуватися до судинної динаміки *in vivo* [60, 61].

Навіть із досягненнями в тканинній інженерії та регенеративній медицині клітинна реакція все ще далека від імітації біологічної функції нативних судин, і розуміння взаємодії між клітинами крові та судинною стінкою з біоматеріалом після трансплантації є дуже необхідним. Ці взаємодії мають тенденцію змінюватися з часом після імплантації, і необхідно добре розуміти каскад подій на кожній фазі. Протягом перших кількох годин реакція на чужорідне тіло та запальні і гемостатичні процеси визначають взаємодію між тканинно-інженерним судинним трансплантатом, клітинами та компонентами крові в місці імплантації. Після перших кількох місяців це явище змінюється, і адаптація до гемодинамічної поведінки в місці імплантації домінує в інтеграції судинного трансплантату. Нарешті, трансплантат починає виконувати свою

ECM and are separated from the external environment by an outer elastic lamina. The capillary network lacks this three-layer pattern and consists of endothelial cells lying on a basal membrane with sparsely distributed pericytes. The thickness of the vessel, defined by its cells and associated ECM, varies depending on the arteries and veins. Thus, the structural sizes and composition of native blood vessels are quite unclear, making them a complex candidate in the field of tissue engineering. The ECM of blood vessels is commonly referred to as the matrix or stroma [5].

Fibrous extracellular networks of collagen and elastin provide the dominant mechanical response of tissue. These two classes of fibrous proteins are secretory products of tissues and organs, with collagen being the most abundant fibrous protein, constituting up to 30% of the total mass of proteins in mammals. The proteins of the fibrous matrix allow tissues to withstand high tensile loads and repeated stress without deformation or rupture. Collagen fibers have the highest tensile strength and exhibit nonlinear responses to stretching compared to elastin and fibronectin fibers, which are much more extensible.

Various sources, including human and animal cadavers, have been identified as sources of native vessels for decellularization. However, allotransplantation and xenotransplantation methods may again raise issues related to immunogenicity. These problems, in turn, lead to the rejection of allografts and xenografts by primitive multicellular organisms through phagocytic cells, coagulation proteins, and possibly complement-like proteins.

Currently, vascular tissue engineering focuses on constructing vessels using various biomaterials, cell sources, biomolecules, and mechanical stimuli that can function in physiological environments. Tissue-engineered vascular grafts can integrate, reconstruct, grow, and restore the vascular wall after implantation, creating appropriate environments for tissue formation. Their high similarity to native vessels provides a much more hemodynamically sensitive channel that can better maintain patency, avoid immune reactions, and adapt to vascular dynamics in vivo.

Even with advancements in tissue engineering and regenerative medicine, the cellular response is still far from mimicking the biological function of native vessels, and understanding the interaction between blood cells and the vascular wall with biomaterial post-transplantation is very necessary. These interactions tend to change over time after implantation, and a good understanding of the cascade of events at each phase is essential. During the first few hours, the foreign body reaction and inflammatory and hemostatic processes determine the interaction between the tissue-engineered vascular graft, cells, and blood components at the implantation site. After the first few months, this phenomenon changes, and adaptation to the hemodynamic behavior at the implantation site dominates the integration of the vascular graft. Finally, the graft begins to perform its intended function and reconstruct tissues in response to guiding hemodynamics and cellular exchange. If loss of patency occurs within the first days or weeks, it is usually caused by thrombosis. After that, this event may

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

призначену функцію і реконструює тканини у відповідь на керівну гемодинаміку та обмін клітин. Якщо втрата прохідності відбувається протягом перших днів або тижнів, це зазвичай спричинено тромбозом. Після цього ця подія може призвести до гіперплазії внутрішньої оболонки, при якій механічні властивості судинної стінки є неадекватними для підтримки тиску кровотоку [60, 62, 63]. У довгостроковій перспективі може виникнути атеросклероз, при якому хронічний запальний процес змінює місцевий метаболізм кальцію, викликаючи стеноз і зміцнення судинної стінки, що призводить до їх недостатності [60, 64, 65].

Створення клітинного патерну – це нова тенденція, яка активно дотримується і безпосередньо пропонує просторовий контроль ангіогенезу, точно імітуючи природне явище [60, 64, 65]. Саме тому використання судинних скафолдів з Д-ПКМ виступає одним з найперспективніших підходів у судинній біоінженерній трансплантології. Як видно з наведеного вище рис. 1, за будь-якого підходу фактор дії низькими температури є присутнім, що очевидно зумовлено відтермінуванням початку багатоетапної процедури децелюляризації.

За даними Burk J. та співавт. [68], децелюляризація була більш ефективною при використанні комбінації хімічних обробок (тритон Х-100 і гіпотонічний розчин) та фізичних методів (цикли заморожування-відтавання), залишаючи лише приблизно 1% залишкових ядер та 20% залишкової ДНК, тоді як зразки, які не пройшли додаткові цикли заморожування-відтавання, містили приблизно 20% залишкових ядер та 40% залишкової ДНК [14, 66–68].

Ідеальний тканинно-інженерний судинний каркас повинен повністю інтегруватися з навколишніми судинами та функціонувати як тривимірний каркас для інфільтрації недиференційованих мезенхімальних стовбурових клітин, а також диференційованих клітин (ендотеліальних, гладком'язових клітин та фібробластів) для регенерації судин та позаклітинного матриксу *in vivo*. Щоб забезпечити адекватну тривимірну структуру та повну інтеграцію біоміметичний каркас має відповідати таким вимогам [1]:

1) імітувати фізико-хімічні та біохімічні властивості позаклітинного матриксу природних кровоносних судин;

2) бути біосумісним;

3) мати достатню пористість, щоб забезпечити інфільтрацію клітин-господарів і формування ендоваскулярного просвіту, коли це необхідно, уникаючи кровотечі;

4) мати відповідні механічні властивості (наприклад, відповідність радіальної податливості нативним судинам, висока міцність утримання шва та циклічна стабільність);

5) безпечно деградувати (за потреби) синхронно з новозростаючою тканиною.

Варто зазначити, що склад позаклітинного матриксу кровоносних судин різниться залежно від типу судин, що необхідно враховувати при розробці протоколу децелюляризації (табл. 5).

Кріоконсервація є однією з найпоширеніших процедур зберігання трансплантатів. Після заморожування за допомогою термічно контрольованої процедури в присутності кріопротектора тканина зберігається в парах рідкого азоту протягом визначеного періоду (відповідно до валідацій або директив), перш ніж її розморожують в умовах контрольованого нагрівання перед використанням [69, 70].

lead to hyperplasia of the intima, during which the mechanical properties of the vascular wall are inadequate to support blood flow pressure. In the long term, atherosclerosis may develop, where a chronic inflammatory process alters local calcium metabolism, causing stenosis and hardening of the vascular wall, leading to their insufficiency.

Creating a cellular pattern is a new trend that is actively pursued, directly offering spatial control of angiogenesis, accurately mimicking a natural phenomenon. This is why the use of vascular scaffolds from decellularized extracellular matrix (d-ECM) is one of the most promising approaches in vascular bioengineering transplantation. As can be seen in the above Figure 1, regardless of the approach, the factor of low-temperature action is present, which is evidently due to the delay in the initiation of the multi-step decellularization procedure.

According to Burk J. et al. [68], decellularization was more effective when using a combination of chemical treatments (Triton X-100 and hypotonic solution) and physical methods (freeze-thaw cycles), leaving only approximately 1% residual nuclei and 20% residual DNA, whereas samples that did not undergo additional freeze-thaw cycles contained approximately 20% residual nuclei and 40% residual DNA [14, 66–68].

An ideal tissue-engineered vascular scaffold should fully integrate with surrounding vessels and function as a three-dimensional framework for the infiltration of undifferentiated mesenchymal stem cells, as well as differentiated cells (endothelial cells, smooth muscle cells, and fibroblasts) for *in vivo* vascular and extracellular matrix regeneration. To ensure adequate three-dimensional structure and full integration, the biomimetic scaffold must meet the following requirements [1]:

1) mimic the physicochemical and biochemical properties of the extracellular matrix of natural blood vessels;

2) be biocompatible;

3) have sufficient porosity to allow host cell infiltration and formation of an endovascular lumen when needed, while avoiding hemorrhage;

4) possess appropriate mechanical properties (e.g., matching the radial compliance of native vessels, high suture retention strength, and cyclic stability);

5) degrade safely (if necessary) synchronously with the newly growing tissue.

It is worth noting that the composition of the extracellular matrix of blood vessels varies depending on the type of vessel, which must be considered when developing the decellularization protocol (Table 5).

Cryopreservation is one of the most common procedures for storing grafts. After freezing using a thermally controlled procedure in the presence of a cryoprotectant, the tissue is stored in liquid nitrogen vapor for a specified period (according to validations or directives) before being thawed under controlled heating conditions prior to use [69, 70].

Physical procedures such as ultrasound treatment, mechanical action or pressure, and freeze-thaw cycles are the most frequently used techniques for disrupting cell membranes, isolating cells from the extracellular matrix (ECM), and ensuring subsequent washing to remove cell residues [39, 71, 72].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 5. Компоненти позаклітинного матриксу кровоносних судин (адаптовано за [5])
Table 5. Components of the extracellular matrix of blood vessels (adapted from [5])

Тип судини (діаметр) Vessel type (diameter)	Компоненти ПКМ ECM components
Еластична артерія (30 мм до 5 мм) Elastic artery (30 mm to 5 mm)	Еластин, фібронектин, фібрилін, фібулін, колаген типу I, II, III, IV, V, VI, протеоглікани Elastin, fibronectin, fibrillin, fibulin, collagen type I, II, III, IV, V, VI, proteoglycans
М'язова артерія (6 мм) Muscular artery (6 mm)	Еластин, фібронектин, фібулін, колаген типу I, III, IV, V, VI, протеоглікани Elastin, fibronectin, fibulin, collagen type I, III, IV, V,VI, proteoglycans
Вена (1–5 мм) Vein (1–5 mm)	Еластин, фібронектин, протеоглікани типу I, II, III, IV, VI, XII, XIV Elastin, fibronectin, collagen type I, II, III, IV, VI, XII, XIV proteoglycans
Артеріола (> 50 мкм) Arteriole (> 50 μm)	Еластин, колаген I, III, фібрилін Elastin, collagen I, III, fibrillin
Жилка (20–100 мкм) Veinule (20–100 μm)	Ламінін, колаген IV, фібронектин Laminin, collagen IV, fibronectin
Капіляр (< 20 мкм) Capillary (< 20 μm)	Колаген IV, ламінін фібронектин, гепарансульфатний протеоглікан Collagen IV, laminin fibronectin, heparan sulfate proteoglycan

Фізичні процедури, такі як ультразвукова обробка, механічна дія або тиск, або цикли заморожування-відтавання, є найбільш часто використовуваними техніками для руйнування клітинних мембран, відокремлення клітин з ПКМ та забезпечення подальшого промивання для видалення залишків клітин [39, 71, 72].

За даними Wang X. та співавт. [57], термічний шок, створений циклами заморожування-відтавання, в діапазоні від –87 до +37°, застосовується для руйнування клітинних мембран. Повторювані цикли заморожування та відтавання сприяють утворенню льоду в цитоплазмі та клітинних мембранах.

Процес заморожування-відтавання ефективно лізує клітини в тканинах і органах, але отриманий мембранний і внутрішньоклітинний вміст залишається, якщо його не видалити подальшою обробкою [17].

Різні дослідження встановили, що пошкодження плазматичної мембрани відбувається після етапу розморожування, але точаться дискусії щодо того, коли саме пошкодження відбувається під час циклу [57, 73]. Сучасні механізми, пов'язані з утворенням внутрішньоклітинного льоду, визначають плазматичну мембрану як основне місце пошкодження. Під час заморожування лід спочатку утворюється у позаклітинній воді. Ця теплова зміна збільшує концентрацію іонів у позаклітинній рідині та встановлює нерегульований градієнт осмотичного тиску через плазматичну мембрану. Цей градієнт осмотичного тиску підтримує відтік води та зневоднення цитоплазми та зневоднення клітин, тоді як утворення льоду підтримує фазовий перехід, що призводить як до механічного, так і до немеханічного пошкодження клітин.

Цей метод може ефективно видалити клітинний вміст, але може призвести до незначної деградації ECM і механічної нестабільності [74]. Цікаво, що кількість циклів заморожування-відтавання та швидкість зміни температури істотно не вплинули на ефективність децелюляризації, структуру або механічні властивості. Що стосується кровоносних судин, Cheng J. та співавт. [57, 75] представили дослідження з використанням циклів заморожування-відтавання для децелюляризації сонних артерій свиней, але цей процес використовувався разом із хімічною обробкою аніонних та неіонних поверхнево-активних речовин. Мікроскопічний і механічний аналізи показали

According to Wang X. et al. [57], thermal shock created by freeze-thaw cycles ranging from –87° to +37° is applied to disrupt cell membranes. Repeated freeze-thaw cycles contribute to ice formation in the cytoplasm and cell membranes.

The freeze-thaw process effectively lyses cells in tissues and organs, but the resulting membrane and intracellular contents remain unless removed by further processing [17].

Various studies have established that damage to the plasma membrane occurs after the thawing stage, but there is ongoing debate about when exactly the damage occurs during the cycle [57, 73]. Modern mechanisms related to intracellular ice formation identify the plasma membrane as the primary site of damage. During freezing, ice initially forms in extracellular water. This thermal change increases the concentration of ions in the extracellular fluid and establishes an uncontrolled osmotic pressure gradient across the plasma membrane. This osmotic pressure gradient maintains water efflux and dehydration of the cytoplasm and cells, while ice formation supports a phase transition leading to both mechanical and non-mechanical damage to the cells.

This method can effectively remove cellular contents but may lead to slight degradation of the ECM and mechanical instability [74]. Interestingly, the number of freeze-thaw cycles and the rate of temperature change did not significantly affect the efficiency of decellularization, structure, or mechanical properties. Regarding blood vessels, Cheng J. et al. [57, 75] presented a study using freeze-thaw cycles for the decellularization of porcine carotid arteries, but this process was used in conjunction with chemical treatment of anionic and non-ionic surfactants. Microscopic and mechanical analyses showed well-preserved morphology of the ECM created as a result of freeze-thaw cycles. Additionally, the resulting ECM was accompanied by increased arterial porosity after optimized use of both types of detergents. These results indicate that vascular scaffolds obtained through the sequential use of freeze-thaw cycles and surfactants may serve as a promising option for creating tissue-engineered vascular grafts [57].

It is noteworthy that the advantage of using freeze-thaw cycles is the minimal impact of processing on

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

добре збережену морфологію ПКМ, створену в результаті циклів заморожування-відтавання. Крім того, результуючий ПКМ супроводжувався збільшенням артеріальної пористості після оптимізованого використання обох типів детергенту. Ці результати вказують на те, що судинні каркаси, отримані в результаті послідовного використання циклів заморожування-відтавання та поверхнево-активних речовин, можуть служити перспективним варіантом для створення тканинно-інженерних судинних трансплантатів [57].

Варто відзначити, що перевагою використання циклів заморожування-відтавання, є мінімальний вплив обробки на механічні властивості для носійних, механічно міцних тканин [17, 76].

Після успішної трансплантації тканинно-інженерного децелюляризованого судинного трансплантату в нормі має розпочатись процес рецелюляризації. Рецелюляризація визначається як оновлена репопуляція безклітинних скелетів ПКМ конкретними типами клітин або стовбуровими клітинами з метою формування сконструйованої конструкції зі специфічними структурами та функціями [57, 77]. Останніми роками було показано, що децелюляризований матрикс є відповідним біокаркасом для МСК у застосуванні відновлення тканин, оскільки його природні біофізичні та біохімічні властивості можуть індукувати специфічну диференціацію МСК та подальшу координацію з клітинами для відновлення органів/тканин [57, 78].

Варто зазначити, що беручи до уваги безпеку при клінічному застосуванні та необхідність комерційного виробництва тканинно-інженерних судинних трансплантатів в умовах належної виробничої практики (GMP), стандартизація та точне документування всіх процедурних кроків є вирішальними. Крім того, потрібна ідентична обробка великих кількостей зразків, чого можна досягти лише шляхом автоматизації ключових процедур децелюляризації [57].

the mechanical properties for load-bearing, mechanically robust tissues [17, 76].

After the successful transplantation of a tissue-engineered decellularized vascular graft, the process of recellularization should normally begin. Recellularization is defined as the renewed repopulation of acellular scaffolds with specific cell types or stem cells to form a constructed structure with specific architectures and functions [57, 77].

In recent years, it has been shown that the decellularized matrix serves as a suitable bioscaffold for mesenchymal stem cells (MSCs) in tissue regeneration applications, as its natural biophysical and biochemical properties can induce specific differentiation of MSCs and facilitate subsequent coordination with cells for organ/tissue restoration [57, 78].

It is important to note that, considering safety in clinical applications and the necessity for commercial production of tissue-engineered vascular grafts under good manufacturing practices (GMP), standardization and precise documentation of all procedural steps are critical. Additionally, identical processing of large quantities of samples is required, which can only be achieved through the automation of key decellularization procedures [57].

ВИСНОВКИ

Зростання захворюваності на ССЗ та потреба в їх хірургічному лікуванні обґрунтували необхідність, серед іншого, створення штучних малокаліберних серцево-судинних трансплантатів – замінників кровоносних судин, особливо малого калібру (< 6 мм). Різні джерела, включно з трупами людей і тварин, були ідентифіковані як джерела нативних судин для децелюляризації. Створення клітинного патерну – це нова тенденція, яка активно дотримується і безпосередньо пропонує просторовий контроль ангіогенезу, точно імітуючи природне явище. Кріоконсервація є однією з найпоширеніших процедур зберігання трансплантатів. Процес заморожування-відтавання ефективно лізує клітини в тканинах і органах, та є одним з найперспективніших підходів до децелюляризації при створенні судинних скафолдів.

CONCLUSIONS

The rise in cardiovascular disease prevalence and the need for surgical treatment have underscored the necessity for artificial small-diameter vascular grafts – substitutes for blood vessels, particularly those with a diameter of less than 6 mm. Various sources, including cadavers of humans and animals, have been identified as sources of native vessels for decellularization. The creation of cellular patterns is a new trend that actively offers spatial control of angiogenesis, accurately mimicking natural phenomena. Cryopreservation is one of the most common procedures for storing grafts. The freezing-thawing process effectively lyses cells in tissues and organs and is one of the most promising approaches to decellularization for creating vascular scaffolds.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Dimopoulos A., Markatos D.N., Mitropoulou A., Panagiotopoulos I., Koletsis E., Mavrilas D. A novel polymeric fibrous microstructured biodegradable small-caliber tubular scaffold for cardiovascular tissue engineering. *Journal of materials science. Materials in medicine.* 2021. Vol. 32(2). 21 p. DOI: https://doi.org/10.1007/s10856-021-06490-1

REFERENCES

1. Dimopoulos A, Markatos DN, Mitropoulou A, Panagiotopoulos I, Koletsis E, Mavrilas D. A novel polymeric fibrous microstructured biodegradable small-caliber tubular scaffold for cardiovascular tissue engineering. *Journal of materials science. Materials in medicine.* 2021;32(2):21. DOI: https://doi.org/10.1007/s10856-021-06490-1

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

2. Omid H., Abdollahi S., Bonakdar S., Haghighipour N., Shokrgozar M.A., Mohammadi J. Biomimetic vascular tissue engineering by decellularized scaffold and concurrent cyclic tensile and shear stresses. *Journal of materials science. Materials in medicine.* 2023. Vol. 34(3). 12 p. DOI: https://doi.org/10.1007/s10856-023-06716-4
3. Bouten C.V.C., Dankers P.Y.W., Driessen-Mol A., Pedron S., Brizard A.M.A., Baaijens F.P.T. Substrates for cardiovascular tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews.* 2011. Vol. 63. P. 221–241. DOI: https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.007
4. Wise S.G., Byrom M.J., Waterhouse A., Bannon P.G., Ng M.K.C., Weiss A.S. A multilayered synthetic human elastin/polycaprolactone hybrid vascular graft with tailored mechanical properties. *Acta biomaterialia.* 2011. Vol. 7. P. 295–303. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.07.022
5. Thottappillil N., Nair P.D. Scaffolds in vascular regeneration: current status. *Vascular health and risk management.* 2015. Vol. 11. P. 79–91. DOI: https://doi.org/10.2147/VHRM.S50536
6. Madhavan K., Elliott W.H., Bonani W., Monnet E., Tan W. Mechanical and biocompatible characterizations of a readily available multilayer vascular graft. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2013. Vol. 101B. P. 506–519. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.32851
7. Barbulescu G.I., Bojin F.M., Ordodi V.L., Goje I.D., Barbulescu A.S., Paunescu V. Decellularized Extracellular Matrix Scaffolds for Cardiovascular Tissue Engineering: Current Techniques and Challenges. *International journal of molecular sciences.* 2022. Vol. 23(21). 13040 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms232113040
8. Chang W.G., Niklason L.E. A short discourse on vascular tissue engineering. *NPJ Regenerative medicine.* 2017. Vol. 2. 7 p. DOI: https://doi.org/10.1038/s41536-017-0011-6
9. Isaeva E.V., Beketov E.E., Arguchinskaya N.V., Ivanov S.A., Shegay P.V., Kaprin A.D. Decellularized Extracellular Matrix for Tissue Engineering (Review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine.* 2022. Vol. 14(3). P. 57–68. DOI: https://doi.org/10.17691/stm2022.14.3.07
10. Beketov E.E., Isaeva E.V., Shegay P.V., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Current state of tissue engineering for cartilage regeneration. *Geny i kletki.* 2019. Vol. 14(2). P. 12–20. DOI: https://doi.org/10.23868/201906013
11. Agmon G., Christman K.L. Controlling stem cell behavior with decellularized extracellular matrix scaffolds. *Current opinion in solid state & materials science.* 2016. Vol. 20(4). P. 193–201. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cossms.2016.02.001
12. Burch P.T., Kaza A.K., Lambert L.M., Holubkov R., Shaddy R.E., Hawkins J.A. Clinical performance of decellularized cryopreserved valved allografts compared with standard allografts in the right ventricular outflow tract. *The Annals of thoracic surgery.* 2010. Vol. 90. P. 1301–1306. DOI: https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2010.05.024
13. Gorschewsky O., Klakow A., Riechert K., Pitzl M., Becker R. Clinical comparison of the tutoplast allograft and autologous patellar tendon (bone-patellar tendon-bone) for the reconstruction of the anterior cruciate ligament: 2- and 6-year results. T*he American journal of sports medicine.* 2017. Vol. 33. P. 1202–1209.
14. Zhang X., Chen X., Hong H., Hu R., Liu J., Liu C. Decellularized extracellular matrix scaffolds: Recent trends and emerging strategies in tissue engineering. *Bioactive materials.* 2021. Vol. 10. P. 15–31. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.09.014
15. Heng J.W., Yazid M.D., Abdul Rahman M.R., Sulaiman N. Coatings in Decellularized Vascular Scaffolds for the Establishment of a Functional Endothelium: A Scoping Review of Vascular Graft Refinement. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2021. Vol. 8. 677588 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.677588
16. Gilbert T.W., Sellaro T.L., Badylak S.F. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006. Vol. 27. P. 3675–3683. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014
17. Crapo P.M., Gilbert T.W., Badylak S.F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011. Vol. 32. P. 3233–3243. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057
18. Pashneh-Tala S., MacNeil S., Claeyssens F. The tissue-engineered vascular graft-past, present, and future. *Tissue engineering. Part B, Reviews.* 2016. Vol. 22. P. 68–100. DOI: https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0100
19. Badylak S.F., Taylor D., Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annual review of biomedical engineering.* 2011. Vol. 13. P. 27–53. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071910-124743
20. Weinberg C.B., Bell E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science*. 1986. Vol. 231(4736). P. 397–400. DOI: https://doi.org/10.1126/science.2934816
21. Poel W.E. Preparation of Acellular Homogenates From Muscle Samples. *Science*. 1948. Vol. 108(2806). P. 390–391. DOI: https://doi.org/10.1126/science.108.2806.390-a

2. Omid H, Abdollahi S, Bonakdar S, Haghighipour N, Shokrgozar MA, Mohammadi J. Biomimetic vascular tissue engineering by decellularized scaffold and concurrent cyclic tensile and shear stresses. *Journal of materials science. Materials in medicine.* 2023;34(3):12. DOI: https://doi.org/10.1007/s10856-023-06716-4
3. Bouten CVC, Dankers PYW, Driessen-Mol A, Pedron S, Brizard AMA, Baaijens FPT. Substrates for cardiovascular tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews.* 2011;63:221–41. DOI: https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.007
4. Wise SG, Byrom MJ, Waterhouse A, Bannon PG, Ng MKC, Weiss AS. A multilayered synthetic human elastin/polycaprolactone hybrid vascular graft with tailored mechanical properties. *Acta biomaterialia*. 2011;7:295–303. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.07.022
5. Thottappillil N, Nair PD. Scaffolds in vascular regeneration: current status. *Vascular health and risk management*. 2015;11:79–91. DOI: https://doi.org/10.2147/VHRM.S50536
6. Madhavan K, Elliott WH, Bonani W, Monnet E, Tan W. Mechanical and biocompatible characterizations of a readily available multilayer vascular graft. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2013;101B:506–19. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.32851
7. Barbulescu GI, Bojin FM, Ordodi VL, Goje ID, Barbulescu AS, Paunescu V. Decellularized Extracellular Matrix Scaffolds for Cardiovascular Tissue Engineering: Current Techniques and Challenges. *International journal of molecular sciences.* 2022;23(21):13040. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms232113040
8. Chang WG, Niklason LE. A short discourse on vascular tissue engineering. *NPJ Regenerative medicine.* 2017;2:7. DOI: https://doi.org/10.1038/s41536-017-0011-6
9. Isaeva EV, Beketov EE, Arguchinskaya NV, Ivanov SA, Shegay PV, Kaprin AD. Decellularized Extracellular Matrix for Tissue Engineering (Review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2022;14(3):57–68. DOI: https://doi.org/10.17691/stm2022.14.3.07
10. Beketov EE, Isaeva EV, Shegay PV, Ivanov SA, Kaprin AD. Current state of tissue engineering for cartilage regeneration. *Geny i kletki.* 2019;14(2):12–20. DOI: https://doi.org/10.23868/201906013
11. Agmon G, Christman KL. Controlling stem cell behavior with decellularized extracellular matrix scaffolds. *Current opinion in solid state & materials science.* 2016;20(4):193–201. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cossms.2016.02.001
12. Burch PT, Kaza AK, Lambert LM, Holubkov R, Shaddy RE, Hawkins JA. Clinical performance of decellularized cryopreserved valved allografts compared with standard allografts in the right ventricular outflow tract. *The Annals of thoracic surgery*. 2010;90:1301–6. DOI: https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2010.05.024
13. Gorschewsky O, Klakow A, Riechert K, Pitzl M, Becker R. Clinical comparison of the tutoplast allograft and autologous patellar tendon (bone-patellar tendon-bone) for the reconstruction of the anterior cruciate ligament: 2- and 6-year results. *The American journal of sports medicine.* 2017;33:1202–9.
14. Zhang X, Chen X, Hong H, Hu R, Liu J, Liu C. Decellularized extracellular matrix scaffolds: Recent trends and emerging strategies in tissue engineering. *Bioactive materials.* 2021;10:15–31. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.09.014
15. Heng JW, Yazid MD, Abdul Rahman MR, Sulaiman N. Coatings in Decellularized Vascular Scaffolds for the Establishment of a Functional Endothelium: A Scoping Review of Vascular Graft Refinement. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2021;8:677588. DOI: https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.677588
16. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006;27:3675–83. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014
17. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32:3233–43. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057
18. Pashneh-Tala S, MacNeil S, Claeyssens F. The tissue-engineered vascular graft-past, present, and future. *Tissue engineering. Part B, Reviews.* 2016;22:68–100. DOI: https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0100
19. Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annual review of biomedical engineering*. 2011;13:27–53. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071910-124743
20. Weinberg CB, Bell E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science*. 1986;231(4736):397–400. DOI: https://doi.org/10.1126/science.2934816
21. Poel WE. Preparation of Acellular Homogenates From Muscle Samples. *Science*. 1948;108(2806):390–1. DOI: https://doi.org/10.1126/science.108.2806.390-a

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

22. Devillard C.D., Marquette C.A. Vascular Tissue Engineering: Challenges and Requirements for an Ideal Large Scale Blood Vessel. *Frontiers in bioengineering and biotechnology.* 2021. Vol. 9. 721843 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.721843
23. Hjelle J.T., Carlson E.C., Brendel K., Meezan E. Biosynthesis of basement membrane matrix by isolated rat renal glomeruli. *Kidney international.* 1979. Vol. 15(1). P. 20–32. DOI: https://doi.org/10.1038/ki.1979.3
24. Badylak S.F., Tullius R., Kokini K., Shelbourne K.D., Klootwyk T., Voytik S.L., Kraine M.R., Simmons C. The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achilles tendon repair in a dog model. *Journal of biomedical materials research.* 1995. Vol. 29(8). P. 977–985. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.820290809
25. Song M., Liu Y., Hui L. Preparation and characterization of acellular adipose tissue matrix using a combination of physical and chemical treatments. *Molecular medicine reports*. 2018. Vol. 17(1). P. 138–146. DOI: https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7857
26. Badylak S.F., Freytes D.O., Gilbert T.W. Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. *Acta biomaterialia.* 2009.; Vol. 5. P. 1–13. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.013
27. Jin CZ, Choi BH, Park SR, Min BH. Cartilage engineering using cell-derived extracellular matrix scaffold in vitro. *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2010; Vol. 92:1567–77. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.a.32419
28. Lee S.J., Liu J., Oh S.H., Soker S., Atala A., Yoo J.J. Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions. *Biomaterials*. 2008. Vol. 29(19). P. 2891–2898. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.03.032
29. Stoian A., Adil A., Biniazan F., Haykal S. Two Decades of Advances and Limitations in Organ Recellularization. *Current issues in molecular biology.* 2024. Vol. 46(8). P. 9179–9214. DOI: https://doi.org/10.3390/cimb46080543
30. Taylor D.A., Frazier O.H., Elgalad A., Hochman-Mendez C., Sampaio L.C. Building a Total Bioartificial Heart: Harnessing Nature to Overcome the Current Hurdles. *Artificial organs.* 2018. Vol. 42(10). P. 970–982. DOI: https://doi.org/10.1111/aor.13336
31. Chen F.M., Liu X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. *Progress in polymer science.* 2016. Vol. 53. P. 86–168. DOI: https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.004
32. Liu M., Zeng X., Ma C., Yi H., Ali Z., Mou X. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone research.* 2017. Vol. 5. 17014 p. DOI: https://doi.org/10.1038/boneres.2017.14
33. Bourgine P.E., Gaudiello E., Pippenger B., Jaquiery C., Klein T., Pigeot S. Engineered extracellular matrices as biomaterials of tunable composition and function. *Advanced functional materials.* 2017. Vol. 27. 1605486 p.
34. Keskin M., Kelly C.P., Moreira-Gonzalez A., Lobocki C., Yarim M., Kaplan S., Jackson I.T. Repairing critical-sized rat calvarial defects with a periosteal cell-seeded small intestinal submucosal layer. *Plastic and reconstructive surgery.* 2008. Vol. 122. P. 400–409. DOI: https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31817d6206
35. Uflacker A.B., Janis J.E. The use of acellular dermal matrix in the correction of visible parasternal deformities after breast reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery.* 2010. Vol. 126. P. 34e–36e. DOI: https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181dab369
36. Atkinson J.J., Adair-Kirk T.L., Kelley D.G., Demello D., Senior R.M. Clara cell adhesion and migration to extracellular matrix. *Respiratory research.* 2008. Vol. 9. 1 p. DOI: https://doi.org/10.1186/1465-9921-9-1
37. Hudson T.W., Liu S.Y., Schmidt C.E. Engineering an improved acellular nerve graft via optimized chemical processing. *Tissue engineering.* 2004. Vol. 10. P. 1346–1358. DOI: https://doi.org/10.1089/1076327042500319
38. Borschel G.H., Dennis R.G., Kuzon W.M. Contractile skeletal muscle tissue-engineered on an acellular scaffold. *Plastic and reconstructive surgery*. 2004. Vol. 113. P. 595–604. DOI: https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000101064.62289.2F
39. Gilbert T.W., Stolz D.B., Biancaniello F., Simmons-Byrd A., Badylak S.F. Production and characterization of ECM powder: Implications for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2005. Vol. 26. P. 1431–1435. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.04.042
40. Rana D., Zreiqat H., Benkirane-Jessel N., Ramakrishna S., Ramalingam M. Development of decellularized scaffolds for stem cell-driven tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine.* 2017. Vol. 11(4). P. 942–965. DOI: https://doi.org/10.1002/term.2061
41. Fernández-Pérez J., Ahearne M. Decellularization and recellularization of cornea: Progress towards a donor alternative. *Methods*. 2020. Vol. 171. P. 86–96. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2019.05.009
42. Neishabouri A., Soltani Khaboushan A., Daghigh F., Kajbafzadeh A.M., Majidi Zolbin M. Decellularization in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Evaluation, Modification, and Application Methods. *Frontiers in bioengineering and biotechnology.* 2022. Vol. 10. 805299 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.805299

22. Devillard CD, Marquette CA. Vascular Tissue Engineering: Challenges and Requirements for an Ideal Large Scale Blood Vessel. *Frontiers in bioengineering and biotechnology.* 2021;9:721843. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.721843
23. Hjelle JT, Carlson EC, Brendel K, Meezan E. Biosynthesis of basement membrane matrix by isolated rat renal glomeruli. *Kidney international.* 1979;15(1):20–32. DOI: https://doi.org/10.1038/ki.1979.3
24. Badylak SF, Tullius R, Kokini K, Shelbourne KD, Klootwyk T, Voytik SL, Kraine MR, Simmons C. The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achilles tendon repair in a dog model. *Journal of biomedical materials research.* 1995;29(8):977–85. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.820290809
25. Song M, Liu Y, Hui L. Preparation and characterization of acellular adipose tissue matrix using a combination of physical and chemical treatments. *Molecular medicine reports.* 2018;17(1):138–46. DOI: https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7857
26. Badylak SF, Freytes DO, Gilbert TW. Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. *Acta biomaterialia*. 2009;5:1–13. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.013
27. Jin CZ, Choi BH, Park SR, Min BH. Cartilage engineering using cell-derived extracellular matrix scaffold in vitro. *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2010;92:1567–77. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.a.32419
28. Lee SJ, Liu J, Oh SH, Soker S, Atala A, Yoo JJ. Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions. *Biomaterials*. 2008;29(19):2891–8. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.03.032
29. Stoian A, Adil A, Biniazan F, Haykal S. Two Decades of Advances and Limitations in Organ Recellularization. *Current issues in molecular biology.* 2024;46(8):9179–214. DOI: https://doi.org/10.3390/cimb46080543
30. Taylor DA, Frazier OH, Elgalad A, Hochman-Mendez C, Sampaio LC. Building a Total Bioartificial Heart: Harnessing Nature to Overcome the Current Hurdles. *Artificial organs*. 2018;42(10):970–82. DOI: https://doi.org/10.1111/aor.13336
31. Chen FM, Liu X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. *Progress in polymer science.* 2016;53:86–168. DOI: https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.004
32. Liu M, Zeng X, Ma C, Yi H, Ali Z, Mou X. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone research.* 2017;5:17014. DOI: https://doi.org/10.1038/boneres.2017.14
33. Bourgine PE, Gaudiello E, Pippenger B, Jaquiery C, Klein T, Pigeot S. Engineered extracellular matrices as biomaterials of tunable composition and function. *Advanced functional materials*. 2017;27:1605486.
34. Keskin M, Kelly CP, Moreira-Gonzalez A, Lobocki C, Yarim M, Kaplan S, Jackson IT. Repairing critical-sized rat calvarial defects with a periosteal cell-seeded small intestinal submucosal layer. *Plastic and reconstructive surgery.* 2008;122:400–9. DOI: https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e31817d6206
35. Uflacker AB, Janis JE. The use of acellular dermal matrix in the correction of visible parasternal deformities after breast reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*. 2010;126:34e–6e. DOI: https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181dab369
36. Atkinson JJ, Adair-Kirk TL, Kelley DG, Demello D, Senior RM. Clara cell adhesion and migration to extracellular matrix. *Respiratory research.* 2008;9:1. DOI: https://doi.org/10.1186/1465-9921-9-1
37. Hudson TW, Liu SY, Schmidt CE. Engineering an improved acellular nerve graft via optimized chemical processing. *Tissue engineering*. 2004;10:1346–58. DOI: https://doi.org/10.1089/1076327042500319
38. Borschel GH, Dennis RG, Kuzon WM. Contractile skeletal muscle tissue-engineered on an acellular scaffold. *Plastic and reconstructive surgery.* 2004;113:595–604. DOI: https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000101064.62289.2F
39. Gilbert TW, Stolz DB, Biancaniello F, Simmons-Byrd A, Badylak SF. Production and characterization of ECM powder: Implications for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2005;26:1431–5. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.04.042
40. Rana D, Zreiqat H, Benkirane-Jessel N, Ramakrishna S, Ramalingam M. Development of decellularized scaffolds for stem cell-driven tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine.* 2017;11(4):942–65. DOI: https://doi.org/10.1002/term.2061
41. Fernández-Pérez J, Ahearne M. Decellularization and recellularization of cornea: Progress towards a donor alternative. *Methods*. 2020;171:86–96. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2019.05.009
42. Neishabouri A, Soltani Khaboushan A, Daghigh F, Kajbafzadeh AM, Majidi Zolbin M. Decellularization in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Evaluation, Modification, and Application Methods. *Frontiers in bioengineering and biotechnology.* 2022;10:805299. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.805299

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

43. Hinderer S., Layland S.L., Schenke-Layland K. ECM and ECM-like materials – Biomaterials for applications in regenerative medicine and cancer therapy. *Advanced drug delivery reviews.* 2016. Vol. 97. P. 260–269. DOI: https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.019
44. Duisit J., Amiel H., Wüthrich T., Taddeo A., Dedriche A., Destoop V. Perfusion-decellularization of human ear grafts enables ECM-based scaffolds for auricular vascularized composite tissue engineering. *Acta biomaterialia*. 2018. Vol. 73. P. 339–354. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.04.009
45. Dhandayuthapani B., Yoshida Y., Maekawa T., Kumar D.S. Polymeric Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *International journal of polymer science*. 2011. DOI: https://doi.org/10.1155/2011/290602
46. Adil A., Xu M., Haykal S. Recellularization of Bioengineered Scaffolds for Vascular Composite Allotransplantation. *Frontiers in surgery.* 2022. Vol. 9. 843677 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fsurg.2022.843677
47. Shang Y., Wang G., Zhen Y., Liu N., Nie F., Zhao Z. Application of decellularization-recellularization technique in plastic and reconstructive surgery. *Chinese medical journal*. 2023. Vol. 136. P. 2017–2027. DOI: https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002085
48. Nagata S., Hanayama R., Kawane K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. *Cell*. 2010. Vol. 140(5). P. 619–630. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.014
49. Zheng M.H., Chen J., Kirilak Y., Willers C., Xu J., Wood D. Porcine small intestine submucosa (SIS) is not an acellular collagenous matrix and contains porcine DNA: possible implications in human implantation. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*. 2005. Vol. 73(1). P. 61–67. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.30170
50. Hodde J.P., Hiles M. Virus safety of a porcine-derived medical device: evaluation of a viral inactivation method. *Biotechnology and bioengineering.* 2002. Vol. 79(2). P. 211–216. DOI: https://doi.org/10.1002/bit.10281
51. Gorschewsky O., Klakow A., Riechert K., Pitzl M., Becker R. Clinical comparison of the Tutoplast allograft and autologous patellar tendon (bone-patellar tendon-bone) for the reconstruction of the anterior cruciate ligament: 2- and 6-year results. *The American journal of sports medicine.* 2005. Vol. 33(8). P. 1202–1209. DOI: https://doi.org/10.1177/0363546504271510
52. Gorschewsky O., Puetz A., Riechert K., Klakow A., Becker R. Quantitative analysis of biochemical characteristics of bone-patellar tendon-bone allografts. *Bio-medical materials and engineering*. 2005. Vol. 15(6). P. 403–411.
53. Freytes D.O., Stoner R.M., Badylak S.F. Uniaxial and biaxial properties of terminally sterilized porcine urinary bladder matrix scaffolds. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*. 2008. Vol. 84(2). P. 408–414. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.30885
54. Sun W.Q., Leung P. Calorimetric study of extracellular tissue matrix degradation and instability after gamma irradiation. *Acta biomaterialia.* 2008. Vol. 4(4). P. 817–826. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.02.006
55. Moreau M.F., Gallois Y., Basle M.F., Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials*. 2000. Vol. 21(4). P. 369–376. DOI: https://doi.org/10.1016/s0142-9612(99)00193-3
56. Gouk S.S., Lim T.M., Teoh S.H., Sun W.Q. Alterations of human acellular tissue matrix by gamma irradiation: histology, biomechanical property, stability, in vitro cell repopulation, and remodeling. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2008. Vol. 84(1). 205–217. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.30862
57. Wang X., Chan V., Corridon P.R. Decellularized blood vessel development: Current state-of-the-art and future directions. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2022. Vol. 10. 951644 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.951644
58. Cohen S., Partouche S., Gurevich M., Tennak V., Mezhybovsky V., Azarov D. Generation of vascular chimerism within donor organs. *Scientific reports.* 2021. Vol. 11(1). 13437 p. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-021-92823-7
59. Williams C., Liao J., Joyce E.M., Wang B., Leach J.B., Sacks M.S., Wong J.Y. Altered structural and mechanical properties in decellularized rabbit carotid arteries. *Acta biomaterialia.* 2009. Vol. 5(4). P. 993–1005. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.actbio.2008.11.028
60. Shakeel A., Corridon P.R. Mitigating challenges and expanding the future of vascular tissue engineering-are we there yet? *Frontiers in physiology.* 2023. Vol. 13. 1079421 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1079421
61. Matsuzaki Y., John K., Shoji T., Shinoka T. The Evolution of Tissue Engineered Vascular Graft Technologies: From Preclinical Trials to Advancing Patient Care. *Applied sciences.* 2019. Vol. 9(7). 1274 p. DOI: https://doi.org/10.3390/app9071274
62. Wautier J.L., Wautier M.P. Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases. *Clinical hemorheology and microcirculation.* 2013. Vol. 53(1–2). P. 11–21. DOI: https://doi.org/10.3233/CH-2012-1572

43. Hinderer S, Layland SL, Schenke-Layland K. ECM and ECM-like materials – Biomaterials for applications in regenerative medicine and cancer therapy. *Advanced drug delivery reviews.* 2016;97:260–9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.019
44. Duisit J, Amiel H, Wüthrich T, Taddeo A, Dedriche A, Destoop V. Perfusion-decellularization of human ear grafts enables ECM-based scaffolds for auricular vascularized composite tissue engineering. *Acta biomaterialia*. 2018;73:339–54. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.04.009
45. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS. Polymeric Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *International journal of polymer science.* 2011. DOI: https://doi.org/10.1155/2011/290602
46. Adil A, Xu M, Haykal S. Recellularization of Bioengineered Scaffolds for Vascular Composite Allotransplantation. *Frontiers in surgery.* 2022;9:843677. DOI: https://doi.org/10.3389/fsurg.2022.843677
47. Shang Y, Wang G, Zhen Y, Liu N, Nie F, Zhao Z. Application of decellularization-recellularization technique in plastic and reconstructive surgery. *Chinese medical journal.* 2023;136:2017–27. DOI: https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002085
48. Nagata S, Hanayama R, Kawane K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. *Cell*. 2010;140(5):619–30. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.014
49. Zheng MH, Chen J, Kirilak Y, Willers C, Xu J, Wood D. Porcine small intestine submucosa (SIS) is not an acellular collagenous matrix and contains porcine DNA: possible implications in human implantation. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2005;73(1):61–7. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.30170
50. Hodde JP, Hiles M. Virus safety of a porcine-derived medical device: evaluation of a viral inactivation method. *Biotechnology and bioengineering.* 2002;79(2):211–6. DOI: https://doi.org/10.1002/bit.10281
51. Gorschewsky O, Klakow A, Riechert K, Pitzl M, Becker R. Clinical comparison of the Tutoplast allograft and autologous patellar tendon (bone-patellar tendon-bone) for the reconstruction of the anterior cruciate ligament: 2- and 6-year results. *The American journal of sports medicine.* 2005;33(8):1202–9. DOI: https://doi.org/10.1177/0363546504271510
52. Gorschewsky O, Puetz A, Riechert K, Klakow A, Becker R. Quantitative analysis of biochemical characteristics of bone-patellar tendon-bone allografts. *Bio-medical materials and engineering*. 2005;15(6):403–11.
53. Freytes DO, Stoner RM, Badylak SF. Uniaxial and biaxial properties of terminally sterilized porcine urinary bladder matrix scaffolds. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*. 2008;84(2):408–14. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.30885
54. Sun WQ, Leung P. Calorimetric study of extracellular tissue matrix degradation and instability after gamma irradiation. *Acta biomaterialia*. 2008;4(4):817–26. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.02.006
55. Moreau MF, Gallois Y, Basle MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials*. 2000;21(4):369–76. DOI: https://doi.org/10.1016/s0142-9612(99)00193-3
56. Gouk SS, Lim TM, Teoh SH, Sun WQ. Alterations of human acellular tissue matrix by gamma irradiation: histology, biomechanical property, stability, in vitro cell repopulation, and remodeling. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* 2008;84(1):205–17. DOI: https://doi.org/10.1002/jbm.b.30862
57. Wang X, Chan V, Corridon PR. Decellularized blood vessel development: Current state-of-the-art and future directions. *Frontiers in bioengineering and biotechnology.* 2022;10:951644. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.951644
58. Cohen S, Partouche S, Gurevich M, Tennak V, Mezhybovsky V, Azarov D. Generation of vascular chimerism within donor organs. *Scientific reports.* 2021;11(1):13437. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-021-92823-7
59. Williams C, Liao J, Joyce EM, Wang B, Leach JB, Sacks MS, Wong JY. Altered structural and mechanical properties in decellularized rabbit carotid arteries. *Acta biomaterialia.* 2009;5(4):993–1005. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.actbio.2008.11.028
60. Shakeel A, Corridon PR. Mitigating challenges and expanding the future of vascular tissue engineering-are we there yet? *Frontiers in physiology*. 2023;13:1079421. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1079421
61. Matsuzaki Y, John K, Shoji T, Shinoka T. The Evolution of Tissue Engineered Vascular Graft Technologies: From Preclinical Trials to Advancing Patient Care. *Applied sciences.* 2019;9(7):1274. DOI: https://doi.org/10.3390/app9071274
62. Wautier JL, Wautier MP. Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases. *Clinical hemorheology and microcirculation.* 2013;53(1–2):11–21. DOI: https://doi.org/10.3233/CH-2012-1572

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

63. Vahidkhah K., Diamond S.L., Bagchi P. Platelet dynamics in three-dimensional simulation of whole blood. *Biophysical journal.* 2014. Vol. 106(11). P. 2529–2540. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.04.028
64. Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J. et al. Tissue engineering at the blood-contacting surface: A review of challenges and strategies in vascular graft development. *Advanced healthcare materials*. 2018. Vol. 7(15). e1701461 p. DOI: https://doi.org/10.1002/adhm.201701461
65. Saito J., Kaneko M., Ishikawa Y., Yokoyama U. Challenges and possibilities of cell-based tissue-engineered vascular grafts. *Cyborg and bionic systems.* 2021. 1532103 p. DOI: https://doi.org/10.34133/2021/1532103
66. Akintewe O.O., Roberts E.G., Rim N-G., Ferguson M.A.H., Wong J.Y. Design approaches to myocardial and vascular tissue engineering. *Annual review of biomedical engineering.* 2017. Vol. 19(1). P. 389–414. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071516-044641
67. Yuan X., Li W., Yao B., Li Z., Kong D., Huang S. et al. Tri-layered vascular grafts guide vascular cells' native-like arrangement. *Polym. (Basel)* 2022. Vol. 14(7). 1370 p. DOI: https://doi.org/10.3390/polym14071370
68. Burk J., Erbe I., Berner D., Kacza J., Kasper C., Pfeiffer B., Winter K., Brehm W. Tissue engineering. *Part C, Methods.* 2014. Vol. 20. P. 276–284. DOI: https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2012.0760
69. Stocco E., Barbon S., Mammana M., Trojan D., Bianchin A., Favaretto F. Development and In Vitro/In Vivo Comparative Characterization of Cryopreserved and Decellularized Tracheal Grafts. *Cells*. 2023. Vol. 12(6). 888 p. DOI: https://doi.org/10.3390/cells12060888
70. Sotres-Vega A., Villalba-Caloca J., Jasso-Victoria R., Olmos-Zúñiga J.R., Gaxiola-Gaxiola M., Baltazares-Lipp M. Cryopreserved Tracheal Grafts: A Review of the Literature. *A Journal of Surgical Basic Science.* 2006. Vol. 19. P. 125–135. DOI: https://doi.org/10.1080/08941930600569779
71. Roth S.P., Glauche S.M., Plenge A., Erbe I., Heller S., Burk J. Automated freeze-thaw cycles for decellularization of tendon tissue – a pilot study. *BMC biotechnology.* 2017. Vol. 17(1). 13 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s12896-017-0329-6
72. Lovati A.B., Bottagisio M., Moretti M. Decellularized and engineered tendons as biological substitutes: a critical review. *Stem cells international.* 2016. Vol. 2016. 7276150 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2016/7276150
73. Rabbani M., Zakian N., Alimoradi N. Contribution of physical methods in decellularization of animal tissues. *Journal of medical signals and sensors.* 2021. Vol. 11. 1 p. DOI: https://doi.org/10.4103/jmss.jmss_2_20
74. Keane T.J., Swinehart I.T., Badylak S.F. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods*. 2015. Vol. 84. P. 25–34. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.03.005
75. Cheng J., Wang C., Gu Y. Combination of freeze-thaw with detergents: A promising approach to the decellularization of porcine carotid arteries. *Biomedical engineering online.* 2019. Vol. 30. P. 191–205. DOI: https://doi.org/10.3233/bme-191044
76. Elder B.D., Kim D.H., Athanasiou K.A. Developing an articular cartilage decellularization process toward facet joint cartilage replacement. *Neurosurgery*. 2010. Vol. 66(4). P. 722–727.
77. Hillebrandt K.H., Everwien H., Haep N., Keshi E., Pratschke J., Sauer I.M. Strategies based on organ decellularization and recellularization. *Transplant International.* 2019. DOI: https://doi.org/10.1111/tri.13462
78. Song H.X., Yin Z., Wu T., Li Y.Z., Luo X., Xu M.Z., Duan L.H., Li J.H. Enhanced Effect of Tendon Stem/Progenitor Cells Combined With Tendon-Derived Decellularized Extracellular Matrix on Tendon Regeneration. *Cell Transplant.* 2018. Vol. 27(11). P. 1634–1643. DOI: https://doi.org/10.1177/0963689718805383

63. Vahidkhah K, Diamond SL, Bagchi P. Platelet dynamics in three-dimensional simulation of whole blood. *Biophysical journal.* 2014;106(11):2529–40. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.04.028
64. Radke D, Jia W, Sharma D, Fena K, Wang G, Goldman J, et al. Tissue engineering at the blood-contacting surface: A review of challenges and strategies in vascular graft development. *Advanced healthcare materials.* 2018;7(15):e1701461. DOI: https://doi.org/10.1002/adhm.201701461
65. Saito J, Kaneko M, Ishikawa Y, Yokoyama U. Challenges and possibilities of cell-based tissue-engineered vascular grafts. *Cyborg and bionic systems.* 2021;1532103. DOI: https://doi.org/10.34133/2021/1532103
66. Akintewe OO, Roberts EG, Rim N-G, Ferguson MAH, Wong JY. Design approaches to myocardial and vascular tissue engineering. *Annual review of biomedical engineering.* 2017;19(1):389–414. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071516-044641
67. Yuan X, Li W, Yao B, Li Z, Kong D, Huang S, et al. Tri-layered vascular grafts guide vascular cells' native-like arrangement. *Polym. (Basel)* 2022;14(7):1370. DOI: https://doi.org/10.3390/polym14071370
68. Burk J, Erbe I, Berner D, Kacza J, Kasper C, Pfeiffer B, Winter K, Brehm W. Tissue engineering. *Part C, Methods.* 2014;20:276–84. DOI: https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2012.0760
69. Stocco E, Barbon S, Mammana M, Trojan D, Bianchin A, Favaretto F. Development and In Vitro/In Vivo Comparative Characterization of Cryopreserved and Decellularized Tracheal Grafts. *Cells*. 2023;12(6):888. DOI: https://doi.org/10.3390/cells12060888
70. Sotres-Vega A, Villalba-Caloca J, Jasso-Victoria R, Olmos-Zúñiga JR, Gaxiola-Gaxiola M, Baltazares-Lipp M. Cryopreserved Tracheal Grafts: A Review of the Literature. *A Journal of Surgical Basic Science*. 2006;19:125–35. DOI: https://doi.org/10.1080/08941930600569779
71. Roth SP, Glauche SM, Plenge A, Erbe I, Heller S, Burk J. Automated freeze-thaw cycles for decellularization of tendon tissue – a pilot study. *BMC biotechnology.* 2017;17(1):13. DOI: https://doi.org/10.1186/s12896-017-0329-6
72. Lovati AB, Bottagisio M, Moretti M. Decellularized and engineered tendons as biological substitutes: a critical review. *Stem cells international*. 2016;2016:7276150. DOI: https://doi.org/10.1155/2016/7276150
73. Rabbani M, Zakian N, Alimoradi N. Contribution of physical methods in decellularization of animal tissues. *Journal of medical signals and sensors.* 2021;11:1. DOI: https://doi.org/10.4103/jmss.jmss_2_20
74. Keane TJ, Swinehart IT, Badylak SF. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods*. 2015;84:25–34. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.03.005
75. Cheng J, Wang C, Gu Y. Combination of freeze-thaw with detergents: A promising approach to the decellularization of porcine carotid arteries. *Biomedical engineering online.* 2019;30:191–205. DOI: https://doi.org/10.3233/bme-191044
76. Elder BD, Kim DH, Athanasiou KA. Developing an articular cartilage decellularization process toward facet joint cartilage replacement. *Neurosurgery*. 2010;66(4):722–7.
77. Hillebrandt KH, Everwien H, Haep N, Keshi E, Pratschke J, Sauer IM. Strategies based on organ decellularization and recellularization. *Transplant International.* 2019. DOI: https://doi.org/10.1111/tri.13462
78. Song HX, Yin Z, Wu T, Li YZ, Luo X, Xu MZ, Duan LH, Li JH. Enhanced Effect of Tendon Stem/Progenitor Cells Combined With Tendon-Derived Decellularized Extracellular Matrix on T endon Regeneration. *Cell Transplant.* 2018;27(11):1634–43. DOI: https://doi.org/10.1177/0963689718805383

Перспективи подальших досліджень / Prospects for further research

Проведене узагальнення відомостей щодо сучасних підходів до створення децелюляризованих судинних скафолдів вказує на перспективність дослідження застосування низьких температур та їх комбінації з іншими фізичними, хімічними та біологічними методами у тканинній біоінженерії судинних трансплантатів.

The summarized information on modern approaches to creating decellularized vascular scaffolds indicates the promising potential of researching the use of low temperatures and their combination with other physical, chemical, and biological methods in tissue bioengineering of vascular grafts.

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 conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, 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.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Інформація про фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України «Вплив низьких температур та екстрактів серця і селезінки на процеси некротизації і регенерації міокарду, судин та хряща», номер державної реєстрації 0217U003336, термін виконання: 2011–2016 рр., керівник – завідувач відділу, доктор медичних наук, професор Б.П. Сандомирський.

Funding information

The article is a fragment of a planned research project by the Department of Experimental Cryomedicine at the Institute of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine «The Effect of low temperatures and extracts from the heart and spleen on the processes of pecrosis and regeneration of myocardium, blood vessels, and cartilage», state registration number 0217U003336, duration: 2011–2016, project leader – Head of the Department, Doctor of Medical Sciences, Professor B.P. Sandomyrskyi.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Шевченко Євген Віталійович – асистент кафедри хірургічних хвороб медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: evgeniy.v.shevchenko@karazin.ua
моб.: +38 (057) 372-19-08
Внесок автора: *концепція та дизайн роботи, формулювання мети, збір даних та інтерпретація отриманих результатів, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету 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, участь у обговоренні отриманих результатів.*

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; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua
моб.: +38 (057) 705-12-36
Внесок автора: *підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Shevchenko Yevghen Vitaliyovych – Assistant of the Department of the Surgical Diseases 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: evgeniy.v.shevchenko@karazin.ua
tel.: +38 (057) 372-19-08
Author's contribution: *concept and design of the work, formulation of the goal, data collection and interpretation of the obtained results, writing the text of the article, formulation of conclusions.*

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, 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, participation in the discussion of the obtained results.*

Matvieienko Mariia Serhiivna – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine» (Candidate of Medical Sciences), Associate Professor, Head of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua
tel.: +38 (057) 705-12-36
Author's contribution*: selection of literary sources, participation in the discussion of the obtained results.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 15.05.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 23.06.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 02.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 387–413
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):387–413

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-09
УДК: 616-008.6-078-097

Українська адаптація номенклатури міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних (антинуклеарних) антитіл

Тарасов Є.В., https://orcid.org/0000-0001-6809-5921, e-mail: yevhen.tarasov@onmedu.edu.ua
Куртова М.М., https://orcid.org/0000-0003-4060-619X, e-mail: marianna.kurtova@onmedu.edu.ua
Кольцова І.Г., https://orcid.org/0000-0001-8784-7068, e-mail: iryna.koltsova@onmedu.edu.ua
Шевчук Г.Ю., https://orcid.org/0000-0001-5041-7283, e-mail: anna.shevchuk@onmedu.edu.ua
Грузевський О.А., https://orcid.org/0000-0003-1953-8380, e-mail: oleksandr.hruzevskyi@onmedu.edu.ua

Одеський національний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Одеса, Україна

Ukrainian adaptation of the nomenclature of the International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns

Tarasov Ye.V., https://orcid.org/0000-0001-6809-5921, e-mail: yevhen.tarasov@onmedu.edu.ua
Kurtova M.M., https://orcid.org/0000-0003-4060-619X, e-mail: marianna.kurtova@onmedu.edu.ua
Koltsova I.H., https://orcid.org/0000-0001-8784-7068, e-mail: iryna.koltsova@onmedu.edu.ua
Shevchuk A.Yu., https://orcid.org/0000-0001-5041-7283, e-mail: anna.shevchuk@onmedu.edu.ua
Gruzevskiy O.A., https://orcid.org/0000-0003-1953-8380, e-mail: oleksandr.hruzevskyi@onmedu.edu.ua

Odesa National Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Odesa, Ukraine

Ключові слова:

антинуклерні антитіла, номенклатура ICAP, реакція непрямої імунофлюоресценції, аутоімунні захворювання, системні захворювання сполучної тканини (СЗСТ).

Для кореспонденції:

Тарасов Євген Васильович
Одеський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології;
пров. Валіховський, буд. 2, м. Одеса, Україна, 65082;
e-mail: yevhen.tarasov@onmedu.edu.ua

© Тарасов Є.В., Куртова М.М., Кольцова І.Г., Шевчук Г.Ю., Грузевський О.А., 2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Діагностика аутоімунних захворювань залишається складним багатоетапним процесом, який включає різноманітні методи лабораторних досліджень. Золотим стандартом серологічної діагностики системних захворювань сполучної тканини є реакція непрямої імунофлюоресценції на HEp-2 клітинах. Результатом такого дослідження є опис морфологічного патерну (типу світіння) HEp-2 клітин, що корелює з відповідними аутоантитілами і дозволяє спрямувати подальшу діагностику. Найновіша та найповніша спроба визначити та описати типи світіння Hep-2 клітин при реакції непрямої імунофлюоресценції була зроблена в рамках Міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних антитіл (АЯА) (антинуклеарних антитіл (АНА)) (ICAP).
Мета роботи – адаптувати номенклатуру ICAP для створення національних настанов в українській системі охорони здоров'я.
Матеріали та методи. Основою створення української адаптації слугували матеріали Міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних антитіл.
Результати та їх обговорення. У статті розглянуті та описані різні типи світінь із введенням україномовних термінів для використання під час опису результатів реакції непрямої імунофлюоресценції на HEp-2 клітинах.
Висновки. Із впровадженням та універсальним використанням української адаптації номенклатури Міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних антитіл лабораторна діагностика аутоімунних захворювань сполучної тканини наблизиться до міжнародних стандартів, що створить комфортні умови інтеграції міжнародних протоколів діагностики та лікування системних захворювань сполучної тканини.

Для цитування:

Тарасов Є.В., Куртова М.М., Кольцова І.Г., Шевчук Г.Ю., Грузевський О.А. Українська адаптація номенклатури міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних (антинуклеарних) антитіл. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 387–413. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-09

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 387–413
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):387–413

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Key words:

antinuclear antibodies, ICAP nomenclature, indirect immunofluorescence reaction, autoimmune diseases, systemic diseases of connective tissue (SARDs).

For correspondence:

Tarasov Yevhen Vasylovich
Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of General and Clinical Epidemiology and Biosafety with a Course in Microbiology and Virology;
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine, 65082;
e-mail: yevhen.tarasov@onmedu.edu.ua

© *Tarasov Ye.V., Kurtova M.M., Koltsova I.H., Shevchuk A.Yu., Gruzevskiy O.A., 2024*

ABSTRACT

Background. Diagnosis of autoimmune diseases remains a complex multi-stage process that includes various methods of laboratory testing. The gold standard for serological diagnosis of autoimmune connective tissue disorders is the indirect immunofluorescence assay (IFA) on HEp-2 cells. The result of the test is a description of the morphological pattern observed in the assay, which correlates with the corresponding autoantibodies and allows to direct further diagnostics. The most recent and most comprehensive attempt to describe HEp-2 IFA patterns was made by the International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP).
Purpose. Ukrainian adaptation of the ICAP nomenclature was developed to provide for seamless harmonization and integration with international protocols.
Materials and methods. Ukrainian adaptation was based on the materials the International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP).
Results. Ukrainian nomenclature of HEp-2 IFA patterns is provided in accordance with ICAP nomenclature, to be used a tool for comprehensive description of HEp-2 IFA results and guidance for clinicians.
Conclusions. With the introduction and universal use of the Ukrainian adaptation of ICAP nomenclature, the laboratory diagnosis of autoimmune connective tissue diseases is approaching international standards, which creates conditions for the integration of international protocols for the diagnosis and treatment of these pathologies.

For citation:

Tarasov YeV, Kurtova MM, Koltsova IH, Shevchuk AYu, Gruzevskiy OA. Ukrainian adaptation of the nomenclature of the International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):387–413. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-09

ВСТУП

Антинуклеарні антитіла (АНА) є важливим діагностичним маркером системних захворювань сполучної тканини. Зазвичай, наявність АНА визначається за допомогою реакції непрямої імунофлюоресценції (РНІФ) на HEp-2 клітинах.

Найновіша та найповніша спроба визначити та описати типи світіння Hep-2 клітин при реакції непрямої імунофлюоресценції була зроблена в рамках Міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних антитіл (АЯА) (антинуклеарних антитіл (АНА)) (ICAP). Номенклатура ICAP є базою для опису типів світіння HEp-2 клітин та може бути використана як основа для створення національних настанов, як це було зроблено в інших країнах, наприклад, у Бразилії [1].

З огляду на рекомендації Європейської федерації лабораторної медицини (EFLM), Комітету зі стандартизації аутоантитіл (EASI), що є підкомітетом Комітету з оцінки якості та стандартизації Міжнародного об'єднання імунологічних товариств (IUIS) та ICAP, для того, щоб максимально передати клінічно значущу інформацію, результати HEp-2 скринінгу рекомендовано представляти не тільки із вказаним типом світіння HEp-2 клітин, а й титром (найбільше розведення, що дає позитивний результат) та скринінговим розведенням, що використовується [2].

Мета роботи – адаптувати номенклатуру ICAP для створення національних настанов в українській системі охорони здоров'я.

INTRODUCTION

Antinuclear antibodies (ANA) are an important diagnostic marker of systemic autoimmune rheumatic diseases (SARD). Usually, the presence of ANA is determined using the indirect immunofluorescence assay (IFA) on HEp-2 cells.

The most recent and comprehensive attempt to define and describe the fluorescence patterns of Hep-2 cells by indirect immunofluorescence was made by the International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP). The ICAP nomenclature is the basis for describing morphological patterns observed in the indirect immunofluorescence assay on HEp-2 cells and can be used as a basis for creating national guidelines, as has been done in other countries, for example in Brazil [1].

In view of the recommendations of the European Federation of Laboratory Medicine (EFLM), the Committee for Standardization of Autoantibodies (EASI), which is a subcommittee of the Committee for Quality Assessment and Standardization of the International Union of Immunological Societies (IUIS) and ICAP, in order to maximize the relaying of clinically relevant information, HEp-2 screening results are recommended to be presented not only with the HEp-2 IFA patterns, but also with the titer (highest dilution that gives a positive result) and the screening dilution used [2].

Objective – of this work was to adapt the ICAP nomenclature for the creation of national guidelines in the Ukrainian health care system.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У кооперації з міжнародною погоджувальною групою ICAP було сформовано групу з української адаптації номенклатури ICAP ([3], див.

MATERIALS AND METHODS

In cooperation with the International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP), a working group on the Ukrainian adaptation of the ICAP nomen-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

https://www.anapatterns.org/) до якої увійшли спеціалісти з лабораторної діагностики системних захворювань з різних лабораторних центрів України.

Ілюстрації, використані в статті, належать Міжнародній погоджувальній групі типів світіння антиядерних антитіл. Для кожного типу світіння описаного нижче можна знайти додаткову інформацію та зображення на веб-ресурсі погоджувальної групи.

clature ([3], see https://www.anapatterns.org/) was formed, consisting of specialists in laboratory diagnostics of systemic diseases from various laboratory centers of Ukraine.

The illustrations used in the article belong to the International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP). For each pattern described below, additional information and images can be found on the consensus web-page.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Термін «антинуклеарні антитіла», або АНА (іноді антиядерні антитіла, або АЯА), широко використовується в клінічний та лабораторній практиці останні 50 років. Проте прикметник «антинуклеарні» в АНА не включає антитіла до «не-ядерних» антигенів клітини, що також входять до АНА-антитіл. Незважаючи на це, термін АНА зберігається з огляду на історію та зручність використання. Тому у випадку виявлення чіткого цитоплазматичного чи мітотичного світіння під час реакції непрямої імунофлуоресценції результат АНА буде інтерпретовано як позитивний.

Більшість типів світіння HEp-2 клітин розділено на такі групи: ядерні, цитоплазматичні та мітотичні; негативний тип світіння віднесено до окремої групи. Номенклатура та дерево класифікації приведено на рисунку 1. Номенклатура ICAP вирізняє типи світіння, які мають визначатися всіма лабораторіями, що проводять HEp-2 скринінг (компетентний рівень) та ті, ідентифікація яких є більш складною та вимагає високої кваліфікації спеціалістів, що виконують дослідження (експертний рівень).

Варто зауважити, що існуюче розподілення на компетентний (помаранчеві комірки) та експертний (зелені комірки) рівні є тимчасовим та може з часом змінитися у зв'язку з накопиченням нових даних та оновленнями консенсусу. Проте, типи світіння компетентного рівня настійно рекомендовано до видачі. Типи світіння компетентного рівня розташовані у верхньому рівні дерева класифікації. Кожному типу світіння відповідає код, який вказано під його назвою у відповідній комірці. Так, наприклад, гомогенному ядерному типу світіння відповідає код AC-1 (anti-cell pattern 1 – AC-1). Використання коду дозволяє легко і об'єктивно оцінити тип світіння, а також дозволяє легко знайти додаткову інформацію на веб-ресурсі консенсусу на сайті ICAP (www.ANApatterns.org). Призначення AC кодів зазвичай відбувається зліва направо та зверху вниз. Так, дерево класифікації станом на вересень 2021 року містить 13 типів світіння компетентного рівня. 8 з них належать до групи ядерного типу світіння, а саме: гомогенний, щільний дрібнозернистий, центромери, зернистий, окремі точки в ядрі, ядерцевий, ядерна мембрана та плеоморфний. Решта 5 типів світіння компетентного рівня належать до цитоплазматичного типу: волокнистий, зернистий, мітохондріальний, Гольджі-подібний, палички та кільця. Виявлення останнього залежить від HEp-2 клітин, що використовуються для HEp-2 скринінгу [4–6]. Варто зауважити, що не всі можливі типи світіння включено до класифікації і зміни можливі в нових оновленнях консенсусу.

RESULTS AND DISCUSSION

The term antinuclear antibodies, or ANA, has been widely used in clinical and laboratory practice for the past 50 years. However, the adjective «antinuclear» in ANA does not include antibodies to «non-nuclear» cell antigens, which are also included in ANA antibodies. Despite this, the term ANA is retained due to history and ease of use. Therefore, if clear cytoplasmic or mitotic pattern is observed during HEp-2 IFA, the ANA result will be interpreted as positive.

Most types of HEp-2 cells patterns are divided into the following groups: nuclear, cytoplasmic and mitotic; the negative pattern is assigned to a separate group. The nomenclature and classification tree are shown in Figure 1. The ICAP nomenclature distinguishes patterns that should be identified by all laboratories performing HEp-2 screening (competent level) and those which identification is more difficult and requires high qualification of the specialists performing the assay (expert level).

It should be noted that the existing division into competent (orange cells) and expert (green cells) levels is temporary and may change over time due to the accumulation of new data and consensus updates. However, competent level patterns are strongly recommended to be reported. Competent level patterns are located at the top level of the classification tree. Each pattern corresponds to a code that is indicated under its name in the corresponding cell. So, for example, the code AC-1 (anti-cell pattern 1 – AC-1) corresponds to a nuclear homogeneous pattern. Using the code makes it easy and objective to assess the pattern, and makes it easy to find additional information on the consensus page on the ICAP site (www.ANApatterns.org). Assignment of AC codes is usually from left to right and top to bottom. The classification tree as of September 2021 contains 13 types of competent level patterns. 8 of them belong to the group of nuclear pattern, namely: homogeneous, dense fine speckled, centromere, speckled, discrete nuclear dots, nucleolar, nuclear envelop and pleomorphic. The remaining 5 types of competent-level patterns belong to the cytoplasmic type: fimbrillar, speckled, mitochondrial, Golgi-like, rods and rings. Detection of the latter depends on HEp-2 cells used for HEp-2 screening [4–6]. It is worth noting that not all possible types of fluorescence patterns are included in the classification and changes are possible in new updates of the consensus.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

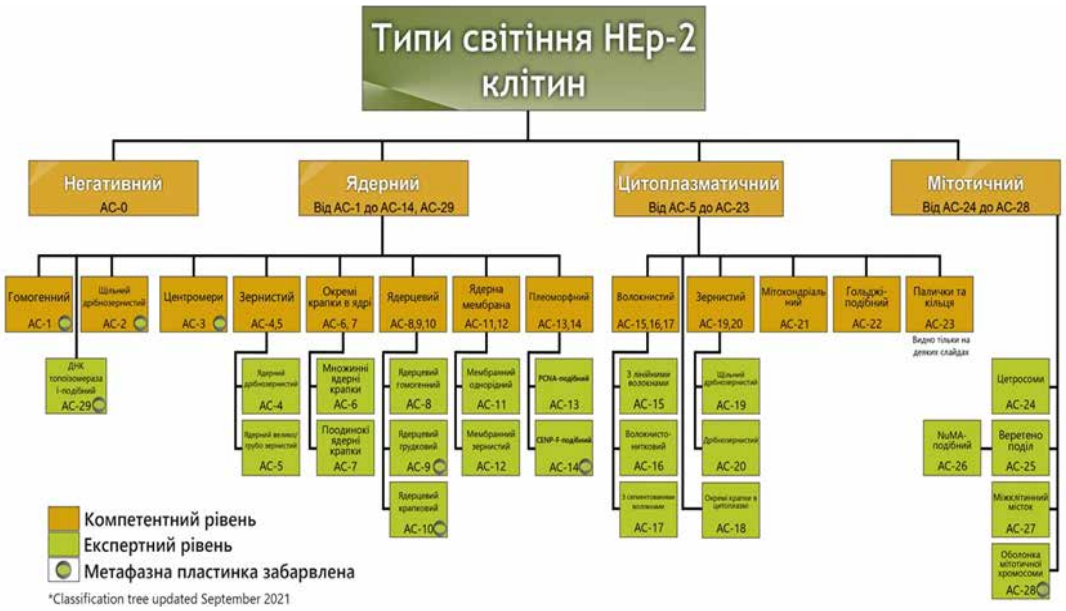


Рис. 1. Номенклатура та дерево класифікації типів світіння HEp-2 клітин

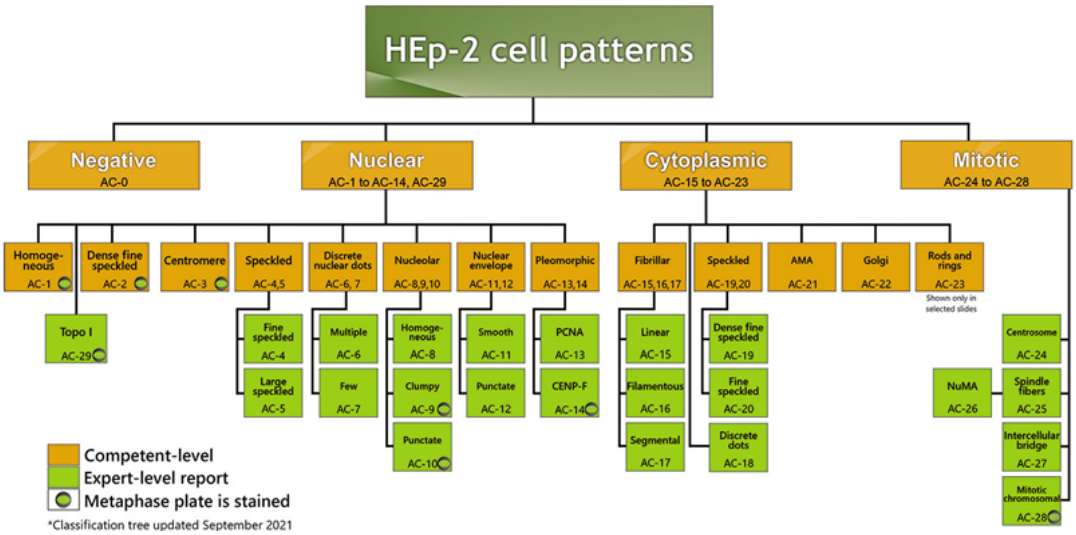


Fig. 1. Nomenclature and classification tree of HEp-2 cells patterns.

Ядерні типи світіння

Ядерні типи світіння визначаються як такі, що демонструють флюоресценцію нуклеоплазми HEp-2 клітин в інтерфазі, в незалежності від того чи забарвлений конденсований хроматин клітин, що діляться. Залежно від характеру забарвлення нуклеоплазми в інтерфазних клітинах вирізняють 15 ядерних типів світіння (таблиця 1). Номенклатура ядерних типів світіння базується на характеристиці світіння нуклеоплазми (гомогенне чи зернисте) та субкомпонентів ядра (ядерця чи центромери). Гомогенний, зернистий, центромери та ядерця – це головні групи типів світіння, що слід враховувати на компетентному рівні у всіх лабораторіях, що виконують HEp-2 скринінг. Якщо існує асоціація між типом світіння та відповідним антигеном, то для його опису використовується назва антигену з додаванням «-подібний» (наприклад, PCNA-подібний тип світіння). Варто зауважити, що використання терміну «-подібний» для опису світіння не виключає необхідності використання подальших досліджень для підтвердження специфічності антитіл. Так, наприк-

Nuclear patterns

Nuclear patterns are defined as those demonstrating fluorescence of the nucleoplasm of HEp-2 cells in interphase, regardless of whether the condensed chromatin of dividing cells is stained or not. Depending on the nature of nucleoplasm staining in interphase cells, 15 types of nuclear patterns are distinguished (Table 1). The nomenclature of nuclear patterns is based on the characteristics of the fluorescence of the nucleoplasm (homogeneous or speckled) and subcomponents of the nucleus (nucleoli or centromeres). Homogeneous, speckled, centromeres, and nucleoli are the main groups of patterns that should be considered competently in all laboratories performing HEp-2 screening. If there is an association between the pattern and the corresponding antigen, then the name of the antigen with the addition of «-like» is used to describe it (eg, PCNA-like pattern). It should be noted that the use of the term «-like» to describe the fluorescence does not preclude the use of further immunoassaysto confirm the specificity of the antibodies. Thus, for example, Western blotting,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

лад, вестернблотинг, імунопреципітація, подвійна імунодифузія, імуноферментний аналіз, лінійні блоти, хемілюмінісценція та інші методи можуть бути використані для підтвердження специфічності антитіл.

immunoprecipitation, double immunodiffusion, enzyme-linked immunosorbent assay, linear blots, chemiluminescence, and other methods can be used to confirm antibody specificity.

Таблиця 1. Ядерні типи світіння у відповідності до характеру світіння окремих компонентів інтерфазних ядер та світіння клітин, що діляться
Table 1. Nuclear patterns defined by reactivity with distinct nuclear compartments in interphase cells and staining of mitotic cells

		Характеристика світіння / Characteristics of fluorescence					
		Нуклеоплазма Nucleoplasm	Ядерця Nucleoli	Конденсований хроматин Metaphase chromosomal plate	Метафазна цитоплазма Metaphase cytoplasm	Мітотичний апарат Mitotic apparatus	Інтерфазна цитоплазма Interphase cytoplasm
1		2	3	4	5	6	7
Ядерний гомогенний (AC-1) Nuclear homogeneous (AC-1)		Гомогенне Homogeneous	+/–	Гомогенне Homogeneous	–	–	–
Ядерний щільний дрібнозернистий (AC-2) Nuclear dense fine speckled (AC-2)		Дрібні гетерогенні гранули Heterogeneous fine speckles	–	Дрібні гетерогенні гранули Heterogeneous fine speckles	–	–	–
Зернистий Speckled	Ядерний дрібнозернистий (AC-4) Nuclear fine speckled (AC-4)	Однакові дрібні гранули Uniform fine speckles	+/–	–	Дифузні дрібні гранули Diffuse fine speckles	–	–
	Ядерний велико/грубо зернистий (AC-5) Nuclear large/coarse speckled (AC-5)	Крупні гранули різного розміру Variably sized large speckles	–	–	Дифузні дрібні гранули Diffuse fine speckles	–	–
Окремі точки в ядрі Discrete nuclear dots	Множинні ядерні точки (AC-6) Multiple nuclear dots (AC-6)	~10 точок ~10 dots	–	Рідко поодинокі точки Rarely occasional dots	+/–	–	–
	Поодинокі ядерні точки (AC-7) Few nuclear dots (AC-7)	1–6 точок 1–6 dots	–	Рідко поодинокі точки Rarely occasional dots	–	–	–
Центромери (AC-3) Centromere (AC-3)		40–80 точок 40–80 dots	–	40–80 точок розташовані вздовж хроматину 40–80 aligned dots	–	–	–
Ядерцевий Nucleolar	Ядерцевий гомогенний (AC-8) Homogeneous nucleolar (AC-8)	–	Гомогенне Homogeneous	–	Дифузно гомогенне Diffuse homogeneous	–	–
	Ядерцевий грудковий (AC-9) Clumpy nucleolar (AC-9)	–	Крупнозернисте, нерівномірне Large granular	Перихромосомне Perichromosomal	+/–	–	–
	Ядерцевий точковий (AC-10) Punctate nucleolar (AC-10)	–	Дрібнозернисте Fine speckled	1–5 яскравих точок (NOR) 1–5 bright pairs of spots (NOR)	+/–	–	–
Ядерна мембрана Nuclear envelope	Мембранний однорідний (AC-11) Smooth nuclear envelope (AC-11)	Гомогенне світіння ядерної мембрани Homogeneous staining of nuclear envelope	–	–	Дифузне Diffuse	–	–
	Мембранний зернистий (AC-12) Punctate nuclear envelope (AC-12)	Зернисте світіння ядерної мембрани Granular staining of nuclear envelope	–	–	Гомогенне/щільне дрібнозернисте Homogeneous/ dense speckled	–	–

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Продовження таблиці 1
Continuation of the table 1

1		2	3	4	5	6	7
Плеоморфний Pleomorphic	PCNA-подібний (AC-13) PCNA-like (AC-13)	Варіабельне зернисте в S-фазі мітозу Variably sized speckles in S-phase cells	Позитивне в пізній S-фазі Positive in late S-phase	–	–	–	–
	CENP-F-подібний (AC-14) CENP-F-like (AC-14)	Дрібнозернисте в G2-фазі мітозу Fine granular in G2-phase	–	40–80 точок розташовані вздовж хроматину 40–80 aligned dots	Дифузне Diffuse	Міжклітинний місток Midbody	–
ДНК топоізомераза I-подібний (AC-29) DNA topoisomerase I (topo I)-like (AC-29)		Дифузне дрібнозернисте Diffuse fine speckled	+/–	дрібнозернисте світіння та інтенсивне світіння NOR Fine speckled and strong staining of NOR	ніжна сітка від перинуклеарного простору до цитоплазамичної мембрани Delicate network radiating from the perinuclear area towards the plasma membrane	–	ніжна сітка від перинуклеарного простору до цитоплазамичної мембрани Delicate network radiating from the perinuclear area towards the plasma membrane

Антигенні асоціації та синоніми згідно з гістологічною номенклатурою наведені в таблиці 2. До таблиці також внесено аутоантигени, а також захворювання, що асоційовані з ядерними типами світіння.

Antigenic associations and synonyms according to histological nomenclature are given in Table 2. The table also includes autoantigens, as well as diseases associated with nuclear patterns.

Таблиця 2. Попередня номенклатура ядерних типів світіння, а також їх асоціації з антигенами та захворюваннями
Table 2. Previous nomenclature of nuclear patterns and association with specific antigens and diseases

Тип світіння / ANA pattern		Попередня номенклатура Previous nomenclature	Асоціація з антигеном Antigen associations	Асоціація із захворюванням Disease association
1	2	3	4	5
Ядерний гомогенний (AC-1) Nuclear homogeneous (AC-1)		Дифузний Diffuse	длДНК, нуклеосоми, гістони dsDNA, nucleosomes, histones	СЧВ, медикаментозний червоний вовчак, ювенільний ідіопатичний артрит SLE, drug-induced lupus, juvenile idiopathic arthritis
Щільний дрібнозернистий (AC-2) Nuclear dense fine speckled (AC-2)		–	DFS70/LEDGF	Рідко при СЧВ, СШ, ССД Rare in SLE, SjS, SSc
Зернистий / Speckled	Ядерний дрібнозернистий (AC-4) Nuclear fine speckled (AC-4)	Дрібний гранулярний Small granular	SS-A/Ro, SS-B/La, Mi-2, TIF1γ, TIF1β, Ku	СШ, СЧВ, ДМ, ССД/ПМ перехресний синдром SjS, SLE, DM, SSc/PM overlap
	Ядерний велико/грубо зернистий (AC-5) Nuclear large/coarse speckled (AC-5)	Сплайсосоми/ядерний матрикс Spliceosome/nuclear matrix	hnRNP, U1RNP, Sm, РНК полімераза III hnRNP, U1RNP, Sm, RNA polymerase III	ЗЗСТ, СЧВ, ССД MCTD, SLE, SSc
Окремі точки в ядрі Discrete nuclear dots	Множинні ядерні точки (AC-6) Multiple nuclear dots (AC-6)	6–20 точок в ядрі, NSpI, PML тільця 6–20 nuclear dots, NSpI, PML bodies	Sp-100, PML (тільця промієлоцитарної лейкемії) білки, MJ/NXP-2 Sp100, PML proteins, MJ/NXP-2	ПБЦ, СЗСТ, ДМ/ПМ PBC, SARD, PM/DM
	Поодинокі ядерні точки (AC-7) Few nuclear dots (AC-7)	1–6 точок в ядрі, коілінові тільця, тільця Кахаля 1–6 nuclear dots, coiled body, Cajal bodies	p80-коілін, SMN p80-coilin, SMN	СШ, СЧВ, ССД, ПМ, безсимптомні пацієнти SjS, SLE, SSc, PM, asymptomatic individuals
Центромери (AC-3) Centromere (AC-3)		Кінетохори Kinetochore	CENP-A/B (C)	Лімітована шкірна ССД, ПБЦ Limited cutaneous SSc, PBC
Ядерцевий / Nucleolar	Ядерцевий гомогенний (AC-8) Homogeneous nucleolar (AC-8)	–	PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th/To, B23/нуклеофозмін, нуклеолін, No55/SC65 PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th/To, B23/nucleophosmin, nucleolin, No55/SC65	ССД, ССД/ПМ перехресний синдром SSc, SSc/PM overlap
	Ядерцевий грудковий (AC-9) Clumpy nucleolar (AC-9)	–	U3-snoRNP/фібрилярин U3-snoRNP/fibrillarin	ССД SSc
	Ядерцевий точковий (AC-10) Punctate nucleolar (AC-10)	Ядерцевий зернистий Nucleolar speckled	РНК полімераза I, hUBF/NOR-90 RNA polymerase I, hUBF/NOR-90	ССД, СШ SSc, SjS

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Продовження таблиці 2
Continuation of the table 2

1	2	3	4	5
Ядерна мембрана Nuclear envelope	Мембранний однорідний (AC-11) Smooth nuclear envelope (AC-11)	Периферичне світіння ядра, ядерна мембрана, мембранний Nuclear rim, nuclear membrane, membranous	Ламінін A,B,C або лімінін-асоційовані білки Lamins A, B, C, or lamin-associated proteins	СЧВ, СШ, серонегативний артрит SLE, SjS, seronegative arthritis
	Мембранний зернистий (AC-12) Punctate nuclear envelope (AC-12)	Пори ядерної мембрани Nuclear membrane pores	Білки порового комплексу ядерної мембрани (наприклад, gp210) Nuclear pore complex proteins (e.g., gp22)	ПБЦ PBC
Плеоморфний Pleomorphic	PCNA-подібний (AC-13) PCNA-like (AC-13)	–	PCNA	СЧВ, інші стани SLE, other conditions
	CENP-F-подібний (AC-14) CENP-F-like (AC-14)	MSA-3, NSp-II	CENP-F	Онкологічна патологія, інші стани Cancer, other conditions
ДНК топоізомераза I-подібний (AC-29) DNA topoisomerase I (topo I)-like (AC-29)		Scl-70-подібний, Scl-86, DNA Topo I Scl-70-like, Scl-86, DNA Topo I	ДНК топоізомераза I DNA topoisomerase I	ССД SSc

Гомогенний (AC-1)

Гомогенний ядерний тип світіння (AC-1) це перший головний тип світіння, що має розглядатися на компетентному рівні усіма лабораторіями, що виконують HEp-2 скринінг. Він характеризується гомогенною і рівномірною флюоресценцією всієї нуклеоплазми (рис. 2). Ядерця можуть бути забарвлені або не забарвлені залежно від клітинного субстрату. Сироватки з високою концентрацію антитіл можуть давати інтенсивне світіння периферії інтерфазного ядра. Конденсований хроматин клітин у мітозі (метафаза, анафаза та телофаза) інтенсивно гомогенно забарвлений. Гомогенний ядерний тип світіння асоційований з антитілами до компонентів хроматину, таких як подвійний ланцюг ДНК, нуклеосоми та гістони. Вкрай важливо диференціювати гомогенний ядерний тип світіння від щільного дрібнозернистого типу світіння, оскільки вони мають різну клінічну значимість.

Homogeneous (AC-1)

Nuclear homogeneous pattern (AC-1) is the first major fluorescence type that should be considered competently by all HEp-2 screening laboratories. It is characterized by homogeneous and uniform fluorescence of the entire nucleoplasm (Figure 2). Nucleoli can be stained or not depending on the cell substrate. Sera with a high concentration of antibodies can give an intense fluorescence of the periphery of the interphase nucleus. Condensed chromatin of cells in mitosis (metaphase, anaphase and telophase) is intensely homogeneously stained. The nuclear homogeneous pattern is associated with antibodies to chromatin components such as double-stranded DNA (dsDNA), nucleosomes, and histones. It is extremely important to differentiate a nuclear homogeneous pattern from a dense fine speckled pattern, as they have different clinical significance.

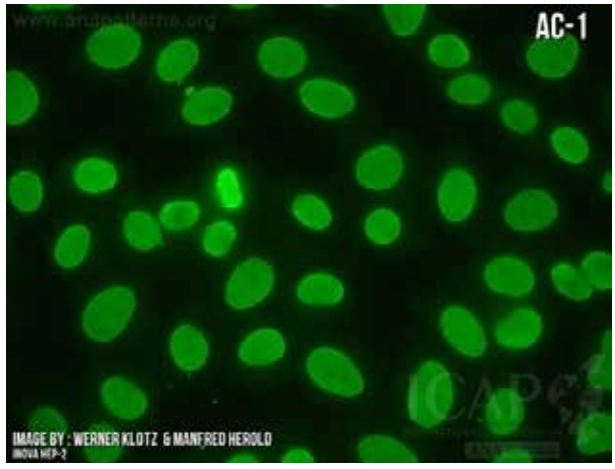


Рис. 2. Гомогенний ядерний тип світіння (AC-1)
Fig. 2. Nuclear homogeneous (AC-1)

Зернистий (AC-2, 4, 5)

Наступною важливою групою світінь, що мають визначатися на компетентному рівні є зернистий тип. Розрізняють дрібнозернистий та велико/грубозернистий типи світіння залежно від розміру зерен в ядрах

Speckled (AC-2, 4, 5)

The next important group of patterns, which should be determined at a competent level, is the speckled type. Distinguish fine speckled and large/coarse speckled patterns, depending on the size of speckles

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

інтерфазних клітин. Так велико/грубозернистий (рис. 5) тип світіння (AC-5) характеризується щільними зернами середнього розміру з великими зернами по всій нуклеоплазмі інтерфазних ядер. Зазвичай, ядерця та конденсований хроматин не забарвлені. Ядерний дрібнозернистий (рис. 4) тип світіння (AC-4) характеризується рівномірним дрібнозернистим світінням всієї нуклеоплазми. Ядерця можуть бути забарвлені (наприклад, SS-B/La або Ku) або ні. Конденсований хроматин клітин у мітотичних клітинах (метафаза, анафаза та телофаза) зазвичай не забарвлений. Цитоплазма клітин у метафазі при велико/грубозернистому та дрібнозернистому типах світіння має дрібнозернисте світіння, що може ущільнюватися біля метафазної пластинки, проте останнє не є визначною характеристикою цього типу світіння.

Головним діагностичним викликом є розрізнити щільний дрібнозернистий тип світіння (AC-2) від гомогенного та зернистих типів. Для AC-2 характерним є щільне та гетерогенне зернисте забарвлення як нуклеоплазми в інтерфазних клітинах, так і, на відміну від інших зернистих типів світіння, конденсованого хроматину в метафазі (рис. 3) [7, 8].

in the nuclei of interphase cells. So large/coarse speckled (Figure 5) pattern (AC-5) is characterized by medium-sized dense speckles with large speckles throughout the nucleoplasm of interphase nuclei. Normally, nucleoli and condensed chromatin are not stained. Nuclear fine speckled (Figure 4) pattern (AC-4) is characterized by uniform fine speckled fluorescence of the entire nucleoplasm. Nuclei may be stained (eg, SS-B/La or Ku) or not. Condensed chromatin of mitotic cells (metaphase, anaphase, and telophase) is usually not stained. Cytoplasm of cells in metaphase with large/coarse speckled and fine speckled patterns has a fine speckled fluorescence that can be concentrated near the metaphase plate, but the latter is not a prominent characteristic of this type of fluorescence.

The main diagnostic challenge is to distinguish the nuclear dense fine speckled pattern (AC-2) from the homogeneous and speckled ones. AC-2 is characterized by dense and heterogeneous speckled staining of both nucleoplasm in interphase cells and, unlike other speckled types of fluorescence, condensed chromatin in metaphase (Figure 3) [7, 8].

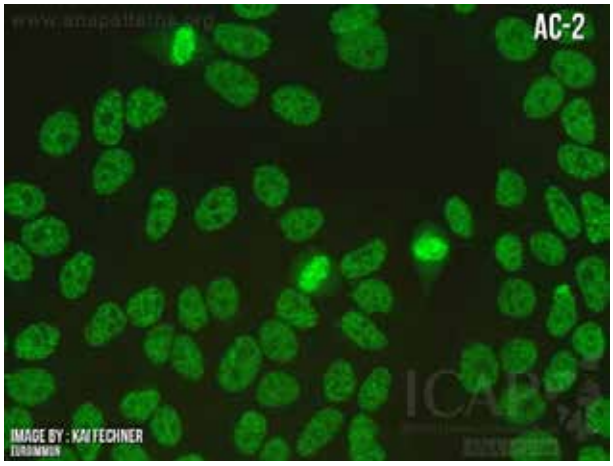


Рис. 3. Щільний дрібнозернистий тип світіння (AC-2)
Fig. 3. Nuclear dense fine speckled (AC-2)

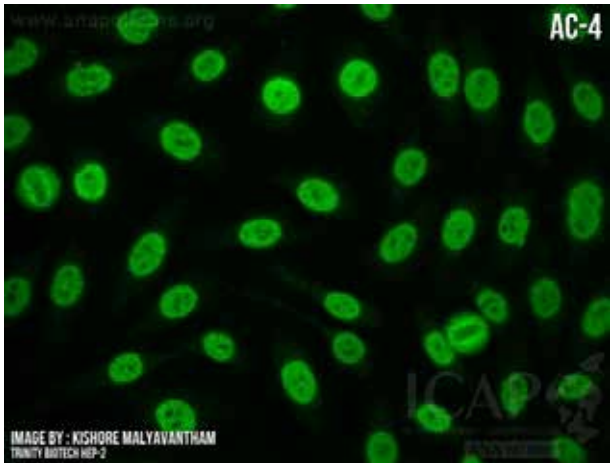


Рис. 4. Ядерний дрібнозернистий тип світіння (AC-4)
Fig. 4. Nuclear fine speckled (AC-4)

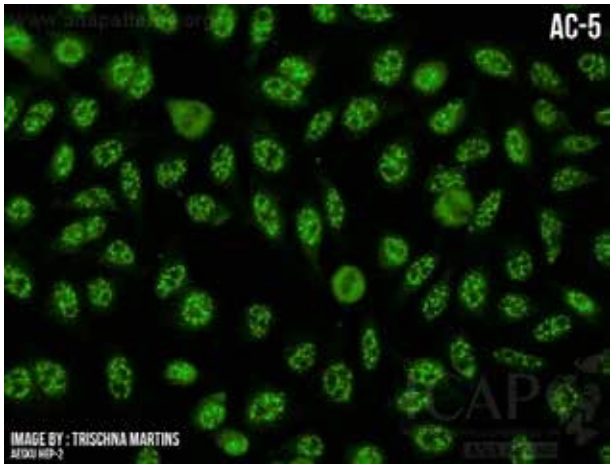


Рис. 5. Велико/грубозернистий тип світіння (AC-5)
Fig. 5. Nuclear large/coarse speckled (AC-5)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Дуже характерною ознакою цього зернистого типу світіння є гетерогенність розміру, яскравості та щільності розподілу зернистості нуклеоплазми в інтерфазі. Цей складний тип світіння асоційований з, наприклад, DFS70 (також відомий як LEDGF/p75) антигеном та вважається клінічно значущим через негативну асоціацію з СЗСТ, якщо підтверджено специфічність антитіл. Тобто, якщо наявність антитіл до DFS70 підтверджується, то ймовірність наявності у пацієнта СЧВ, СШ чи ССД є низькою [7, 9–12]. Саме тому АС-2 належить до компетентного рівня.

A very characteristic feature of this speckled pattern is the heterogeneity of the size, brightness, and density of the nucleoplasm granularity distribution in the interphase. This complex type of fluorescence is associated with, for example, the DFS70 (also known as LEDGF/p75) antigen and is considered clinically significant because of the negative association with connective tissue disorders when antibody specificity is confirmed. That is, if the presence of antibodies to DFS70 is confirmed, then the probability of the patient having SLE, SjS or SSc is low (7. 9–12). That is why AC-2 belongs to the competent level.

ДНК топоізомераза I (topo I)-подібний (АС-29)

Окремо слід розглянути ДНК топоізомераза I (topo I)-подібний тип світіння (раніше відомий як Scl-70-подібний), що було додано до номенклатури ICAP у 2018 році (рис. 6) [13]. Цей складний 5-компонентний тип світіння виявляється на більшості комерційно доступних слайдів з HEp-2 клітинами, але можуть спостерігатися деякі відмінності залежно від експресії відповідних елементів у клітинах різних виробників.

DNA topoisomerase I (topo I)-like (AC-29)

Separately, DNA topoisomerase I (topo I)-like pattern (formerly known as Scl-70-like), which was added to the ICAP nomenclature in 2018 (Figure 6), should be considered [13]. This complex 5-component type of fluorescence is detected on most commercially available HEp-2 cell slides, but some differences may be observed depending on the expression of the corresponding elements in cells from different manufacturers.

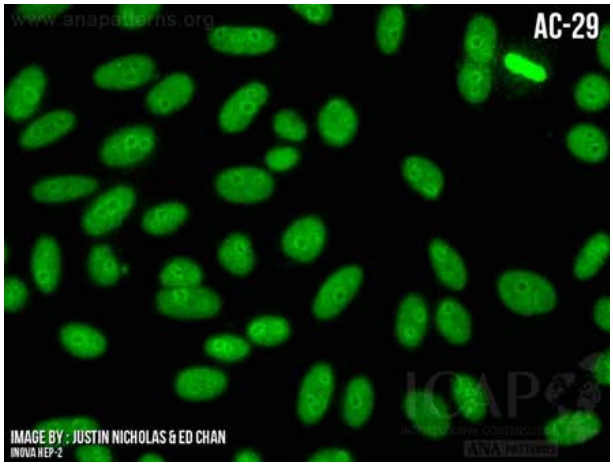


Рис. 6. ДНК топоізомераза I (topo I)-подібний тип світіння (АС-29)
Fig. 6. DNA topoisomerase I (topo I)-like (AC-29)

ДНК топоізомераза I (topo I)-подібний тип світіння включає в себе п'ять субклітинних регіонів:

1. Виражене дрібнозернисте світіння (типу АС-4) ядер клітин в інтерфазі.
2. Стійке виражене дрібнозернисте світіння конденсованого хроматину в клітинах у мітозі. Залежно від розведення сироватки крові світіння конденсованого хроматину може виглядати гомогенним.
3. Сильне світіння ядерцевих організаторів (NOR), асоційованих з конденсованим хроматином клітин у мітозі. Світіння NOR може бути сховано яскравим світінням хромосом, адже NORs не завжди знаходяться в одній фокальній площині.
4. Слабке світіння цитоплазми клітин в інтерфазі (та в мітотичних) у вигляді ніжної сітки від перинуклеарного простору до цитоплазматичної мембрани; при збільшенні розведення сироватки крові цитоплазматичне забарвлення стає більш вираженим.
5. Непостійне світіння ядерець може проявлятися ядерцевим точковим або періядерцевим світінням у інтерфазних клітинах. Світіння ядерець не завжди присутні у зразках.

DNA topoisomerase I (topo I)-like pattern includes five subcellular regions:

1. Pronounced nuclear fine speckled staining (AC-4 type) of cell nuclei in interphase.
2. Strong pronounced fine speckled fluorescence of condensed chromatin in cells in mitosis. Depending on the dilution of serum, the fluorescence of condensed chromatin may appear homogeneous.
3. Strong fluorescence of nucleolar organizers (NOR) associated with condensed chromatin of cells in mitosis. The fluorescence of NORs can be hidden by the bright fluorescence of chromosomes, because NORs are not always in the same focal plane.
4. Weak fluorescence of the cytoplasm of cells in interphase (and in mitotic cells) in the form of a delicate mesh from the perinuclear space to the cytoplasmic membrane; with increased serum dilution, cytoplasmic staining becomes more pronounced.
5. Intermittent fluorescence of nucleoli may manifest as punctate nucleolar or perinucleolar fluorescence in interphase cells. Fluorescence of nucleoli are not always present in samples.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Виявлення всіх 5 компонентів може бути складним завданням, особливо, якщо використовується лише одне розведення сироватки крові (так, наприклад, сильне світіння конденсованого хроматину перекриває світіння ядерцевих організаторів (NOR)) або якщо використовуються напівавтоматичні аналізатори, які аналізують зображення лише в одній фокальній площині (наприклад, NOR або цитоплазматичне світіння може знаходитися поза фокальною площиною інтерфазного ядра).

Тип світіння AC-29, асоційований з антитілами до ДНК топоізомерази I, високоспецифічний для ССД, особливо для дифузної шкірної ССД та більш агресивних форм ССД.

Detection of all 5 components can be challenging, especially if only one serum dilution is used (eg, the strong of condensed chromatin overlaps the fluorescence of nucleolar organizers (NORs)) or if semi-automated analysisis used in only one focal plane (for example, NOR or cytoplasmic fluorescence may be outside the focal plane of the interphase nucleus).

AC-29 pattern is associated with antibodies to DNA topoisomerase I, highly specific for SSc, especially for diffuse cutaneous SSc and more aggressive forms of SSc.

Центромери та окремі точки в ядрі (AC-3, AC-6, AC-7)

Цей тип світіння має визначатися усіма лабораторіями на компетентному рівні на ряду з гомогенним та зернистими. Світіння центромер виглядає як окремі крупні точки біля 40–80 в інтерфазному ядрі, що розташовані вздовж конденсованого хроматину в мітотичних клітинах (рис. 7). Ядерця зазвичай не світяться, але іноді, деякі точки можуть скупчуватися біля них. Антитіла, які асоційовані з цим типом світіння, взаємодіють з білками розташованими біля кінетохорів у хромосомах.

Centromere and Discrete Nuclear Dots (AC-3, AC-6, AC-7)

This pattern should be defined by all laboratories at a competent level along with homogeneous and spackled. Fluorescence of centromeres appears as 40–80 discrete large dots around in the interphase nucleus or aligned along condensed chromatin in mitotic cells (Figure 7). Nucleoli aren't usually stained, but sometimes, some dots may cluster around them. Antibodies associated with this pattern interact with proteins located near kinetochores in chromosomes.

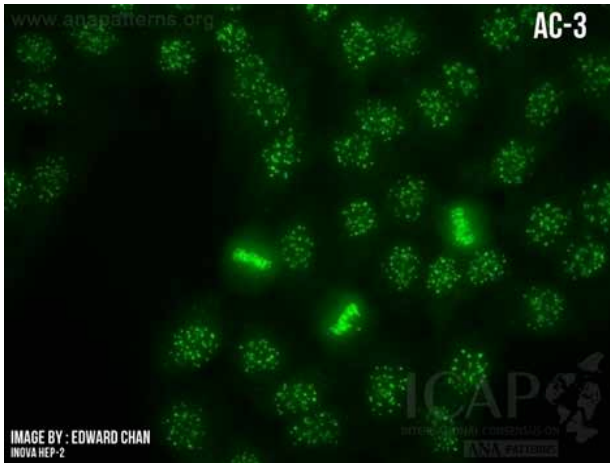


Рис. 7. Світіння за типом центромери (AC-3)
Fig. 7. Centromere (AC-3)

Інші типи світінь, пов'язаних з окремими ядерними точками, діляться в залежності від кількості та місця розташування у інтерфазному ядрі. Світіння за типом множинних ядерних точок (AC-6) характеризується наявністю від 6 до 20 окремих точок (в середньому 10 точок), різного розміру, які можна підрахувати у інтерфазному ядрі (рис. 8). Метафазна пластинка зазвичай не забарвлюється, проте може спостерігатися цитоплазматичне світіння клітин, що діляться. Ці ядерні точки відомі як тільця промієлоцитарної лейкемії (PML) [14, 15]. Антигени, що асоційовані з PML тільцями, включають Sp100 [15], а також нещодавно описаний MJ/NXP-2 [16].

Світіння за типом поодиноких ядерних точок (AC-7) характеризується наявністю від 1 до 6 точок у ядрі, що зазвичай розташовані поруч з ядерцями (рис. 9). Клітини з більшою кількістю ядерних точок

Other patterns associated with discrete nuclear dots are divided depending its number and location in the interphase nucleus. Multiple nuclear dots pattern (AC-6) is characterized by the presence of 6 to 20 discrete dots (on average 10 dots), of different sizes, which can be counted in the interphase nucleus (Figure 8). The metaphase plate is usually not stained, but staining of cytoplasm of dividing cells may be observed. These nuclear dots are known as promyelocytic leukemia (PML) bodies [14, 15]. Antigens associated with PML bodies include Sp100 [15], as well as the recently described MJ/NXP-2 [16].

Few nuclear dots pattern (AC-7) is characterized by the presence of 1 to 6 dots in the nucleus, which are usually located next to the nucleoli (Figure 9). Cells with more nuclear dots (4–6 dots) are in the late S\G2 phase of the cell cycle [17], the metaphase chromatin

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

(4–6 точок) знаходяться у пізній S\G2 фазі клітинного циклу [17], метафазний хроматин клітин у мітозі зазвичай не забарвлений. Ці ядерні точки – це тільця Кахаля (раніше відомі як коілінові тільця), основні антигени яких p-80 коілін [18] та SMN білок [19].

of cells in mitosis is usually not stained. These nuclear dots are Cajal bodies (formerly known as coilin bodies), whose main antigens are p-80 coilin [18] and SMN protein [19].

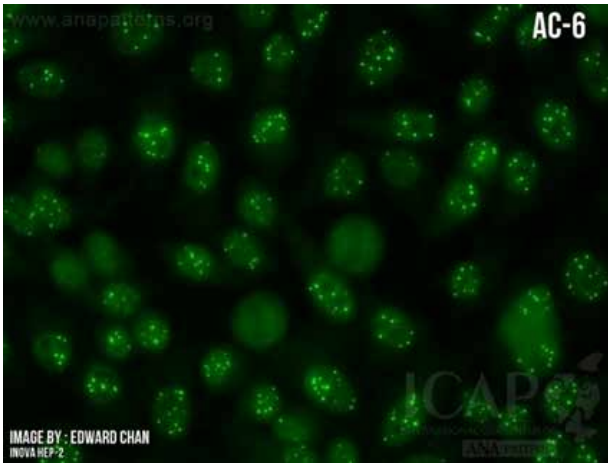


Рис. 8. Світіння за типом множинних ядерних точок (AC-6)
Fig. 8. Multiple nuclear dots (AC-6)

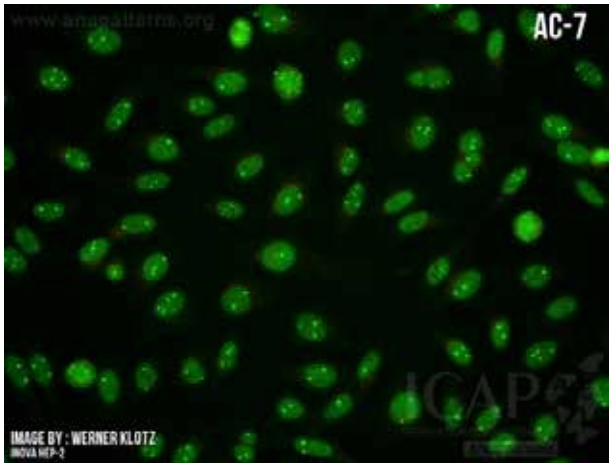


Рис. 9. Світіння за типом поодиноких ядерних точок (AC-7)
Fig. 9. Few nuclear dots (AC-7)

Ядерцевий тип світіння (AC-8, AC-9, AC-10)

Ядерцевий тип світіння визначається як забарвлення ядер, що в основному обмежене забарвленням ядерець інтерфазних клітин. Цей тип світіння належить до компетентного рівня, має визначатися всіма лабораторіями. Враховуючи характер світіння, на експертному рівні розрізняють три підтипи світіння ядерець: гомогенний, грудковий, точковий. Ядерцевий гомогенний тип світіння (AC-8) характеризується гомогенним і рівномірним світінням всього ядерця з можливим слабким гомогенним забарвленням всієї нуклеоплазми, в той час як цитоплазма мітотичних клітин однорідно забарвлена (рис. 10).

Nucleolar patterns (AC-8, AC-9, AC-10)

The nucleolar patterns are defined as the staining of nuclei, that is mainly limited to the staining of the nucleoli of interphase cells. This pattern belongs to the competent level and should be determined by all laboratories. Taking into account the nature of the fluorescence, three subtypes of the nucleoli staining are distinguished at the expert level: homogeneous, lumpy, punctate. Homogeneous nucleolar pattern (AC-8) is characterized by homogeneous and uniform staining of the entire nucleolus with possible weak homogeneous staining of the entire nucleoplasm, while the cytoplasm of mitotic cells is uniformly stained (Figure 10).

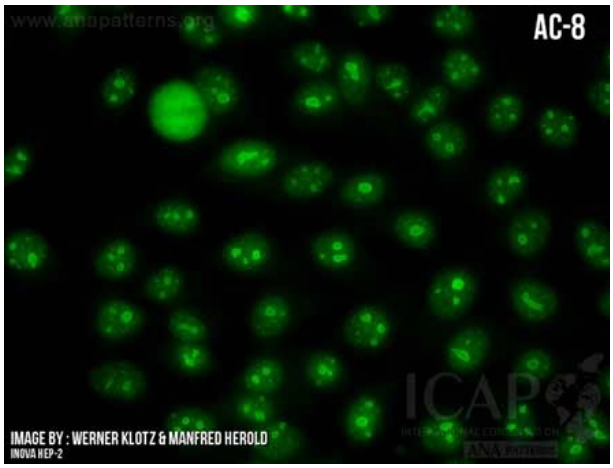


Рис.10. Ядерцевий гомогенний тип світіння (AC-8)
Fig. 10. Nucleolar homogeneous pattern ((AC-8)

Ядерцевий грудковий (AC-9) тип світіння характеризується нерівномірним забарвленням ядерець та тілець Кахаля з пери-хромосомним забарвленням метафазної пластинки. В клітинах, що діляться, зовнішня поверхня конденсованого хроматину зазви-

Clumpy nucleolar pattern (AC-9) is characterized by uneven staining of nucleoli and Cajal bodies with perichromosomal staining of the metaphase plate. In dividing cells, the outer surface of the condensed chromatin is usually stained (peri-chromosomal fluo-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

чай забарвлена (перихромосомне світіння), а цитоплазма може бути незначно позитивною (рис. 11). Антитіла до U3-RNP/фібрилярину зазвичай асоційовані з цим типом світіння [20].

Ядерцевий точковий (AC-10) тип світіння характеризується щільно розповсюдженими, але з чітко розділеними зернинами, світінням ядерець інтерфазних клітин (рис. 12). В метафазних клітинах спостерігається яскраве світіння до 5 пар ядерцевих організаторів (NOR) у вигляді яскравих розрізнених точок у масі хроматину. Цитоплазма клітин у мітозі може бути незначно позитивною. Наприклад, таке світіння зумовлене анти-NOR-90, анти-РНК полімераза I антитілами.

rescence), and the cytoplasm may be slightly positive (Figure 11). Antibodies to U3-RNP/fibrillarin are usually associated with this pattern [20].

The nuclear punctate (AC-10) pattern is characterized by a densely spread, but with clearly separated grains, glow of interphase cell nuclei (Figure 12). In metaphase cells, up to 5 pairs of nucleolar organizers (NOR) are brightly luminescent in the form of bright scattered dots in the mass of chromatin. Cytoplasm of cells in mitosis may be slightly positive. For example, this glow is caused by anti-NOR-90, anti-RNA polymerase I antibodies.

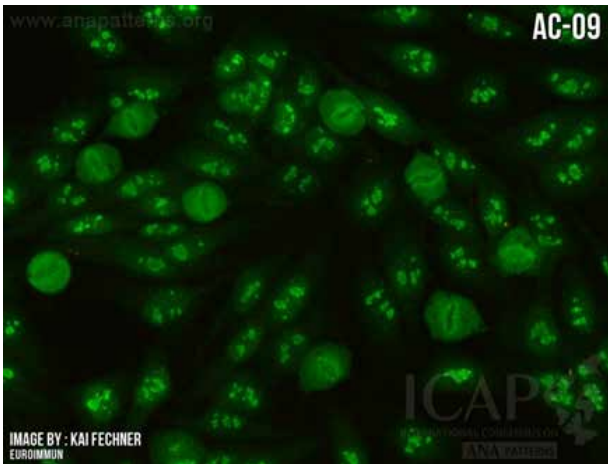


Рис.11. Ядерцевий грудковий тип світіння(AC-9)
Fig. 11. Clumpy nucleolar (AC-9)

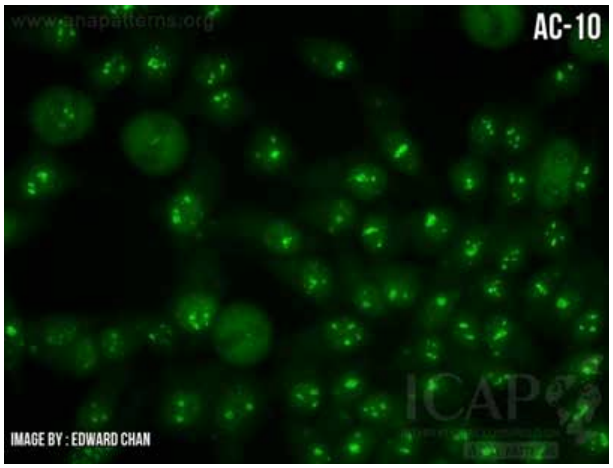


Рис.12. Ядерцевий точковий тип світіння(AC-10)
Fig. 12. Punctate nucleolar (AC-10)

Ядерна мембрана (AC-11, AC-12)

Забарвлення ядерної мембрани може бути за типом мембранного однорідного світіння (AC-11) (рис. 13) або мембранного зернистого (AC-12) (рис. 14) у інтерфазному ядрі. У метафазному ядрі спостерігається дифузне забарвлення цитоплазми та відсутність світіння метафазного хроматину. Забарвлення ядерної мембрани має бути визначене на компетентному рівні усіма лабораторіями, хоча визначення типу світіння ядерної мембрани оцінюється на експертному рівні.

Nuclear envelope (AC-11, AC-12)

There are two types of flourescence of nuclear envelope of interphase cells – smooth nuclear envelope (AC-11) (Figure 13) and Punctate nuclear envelope (AC-12) (Figure 14). In the metaphase nucleus, there is a diffuse staining of the cytoplasm and the absence of metaphase chromatin staining. Staining of the nuclear envelope should be determined at a competent level by all laboratories, although the subtype of nuclear envelope staining is evaluated at an expert level.

Рис.13. Мембранний однорідний тип світіння (AC-11)
Fig. 13. Smooth nuclear envelope (AC-11)

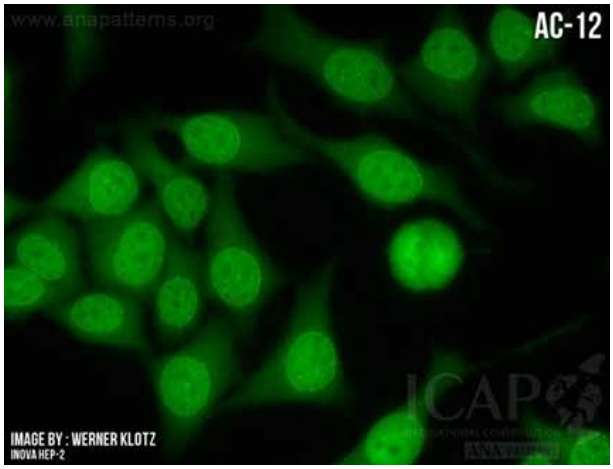


Рис.14. Мембранний зернистий тип світіння (AC-12)
Fig. 14. Punctate nuclear envelope (AC-12)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Плеоморфний тип світіння (AC-13, AC-14)

Як PCNA-подібний (AC-13), так і CENP-F-подібний (AC-14) типи світіння вважаються плеоморфними типами світіння, оскільки вони демонструють варіабельне світіння на різних етапах клітинного циклу. Плеоморфний тип світіння належить до компетентного рівня, в той час як субтипи – до експертного.

PCNA-подібний тип світіння (рис. 15) характеризується варіабельним світінням нуклеоплазми з різними за розмірами та яскравістю зернами, що досягають максимуму в S-фазі клітинного циклу. Залежно від HEp-2 клітин, що використовуються, а також методу їх фіксації, світіння спостерігається у близько 30% клітин. В пізній S-фазі та ранній G2-фазі кількість та розмір зерен прогресивно зменшується, а ядерця також можуть бути забарвлені. Клітини в G1-фазі та мітозі не забарвлені.

CENP-F-подібний тип світіння (рис. 16) характеризується дрібнозернистим світінням нуклеоплазми з незабарвленими ядерцями в інтерфазних клітинах. Зернисте світіння ядер характеризується вираженою варіабельністю інтенсивності світіння з найвищою інтенсивністю в G2 фазі та найменшою/негативною в G1 фазі. Світіння центромер спостерігається тільки в прометафазі та метафазі, та представлене дрібними точками, що слабо світяться, розташованими вздовж конденсованого хроматину. Клітини в прометафазі часто мають слабке світіння ядерної мембрани. Під час анафази та телофази деякі сироватки демонструють забарвлення кільця, що знаходиться в серединному тілі, де відбувається поділ дочірніх клітин. Цитоплазма клітин, що діляться, дифузно забарвлена. В той час як деякі анти-CENP-F сироватки можуть демонструвати світіння серединного тіла, ця ознака не є характерною для CENP-F-подібного типу світіння.

Pleomorphic pattern (AC-13, AC-14)

Both PCNA-like (AC-13) and CENP-F-like (AC-14) patterns are considered pleomorphic because they exhibit variable staining at different stages of the cell cycle. The pleomorphic pattern belongs to the competent level, while the subtypes belong to the expert level.

PCNA-like pattern (Figure 15) is characterized by a variable staining of the nucleoplasm with speckles of different sizes and brightness, reaching a maximum in the S-phase of the cell cycle. Depending on the HEp-2 cells used, as well as the method of their fixation, fluorescence is observed in about 30% of cells. In late S-phase and early G2-phase, the number and size of the speckles progressively decrease, and the nucleoli may also be stained. Cells in G1-phase and mitosis are not stained.

CENP-F-like pattern (Figure 16) is characterized by fine granular staining of nucleoplasm with unstained nucleoli in interphase cells. Granular fluorescence of nuclei is characterized by marked variability in fluorescence intensity with the highest intensity in the G2 phase and the lowest/negative in the G1 phase. Staining of centromeres is observed only in prometaphase and metaphase, and is represented by small, weakly stained dots aligned with condensed chromatin. Cells in prometaphase often have a faint fluorescence of the nuclear membrane. During anaphase and telophase, some sera show staining of the ring located in the midbody, where daughter cell division occurs. The cytoplasm of dividing cells is diffusely stained. While some anti-CENP-F sera may show midbody staining, this feature is not characteristic of the CENP-F-like pattern.

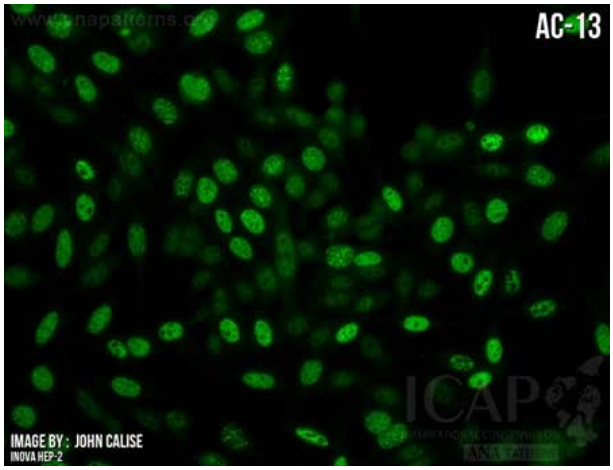


Рис.15. PCNA-подібний тип світіння (AC-13)
Fig. 15. PCNA-like (AC-13)

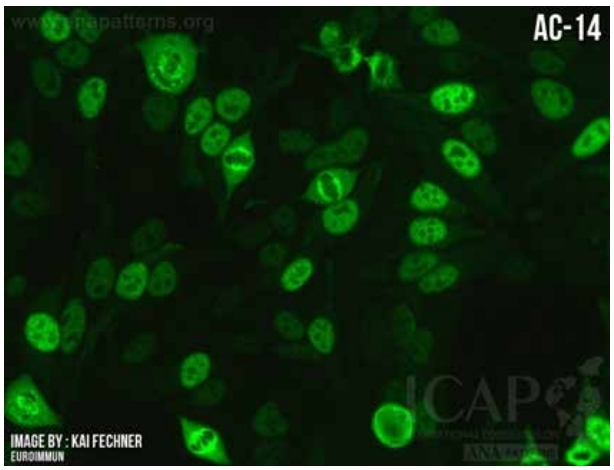


Рис. 16. CENP-F-подібний тип світіння (AC-14)
Fig. 16. CENP-F-like (AC-14)

Незважаючи на те, що PCNA- та CENP-F-подібні типи світіння асоційовані з антитілами до одноіменних антигенів, необхідні подальші дослідження позитивних сироваток для підтвердження специфічності антитіл.

Despite the fact that PCNA- and CENP-F-like patterns are associated with antibodies to the antigens of the same name, further studies of positive sera are needed to confirm the specificity of the antibodies.

Цитоплазматичний тип світіння

Дерево класифікації подано на рисунку 1. Цитоплазматичний тип світіння визначається як будь-яке світіння цитоплазми HEp-2 клітин незалежно від забарвлення ядер чи мітотичних клітин. Розріз-

Cytoplasmic pattern

The classification tree is shown in Figure 1. The cytoplasmic pattern is defined as any staining of the cytoplasm of HEp-2 cells, regardless of the staning of nuclei or mitotic cells. There are five cytoplamic

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

няють п'ять типів цитоплазматичного світіння, що належать до компетентного рівня: волокнистий цитоплазматичний (AC-15, AC-16, AC-17), зернистий цитоплазматичний (AC-18, AC-19, AC-20), мітохондріальний (AC-21), Гольджі-подібний (AC-22) та палички й кільця (AC-23). Номенклатура базується на характері світіння, що спостерігається у цитоплазмі (волокнистий або зернистий цитоплазматичний типи світіння), а також світінні окремих структур в цитоплазмі (наприклад, палички та кільця). Якщо існує сильна кореляція між аутоантигеном-мішенню або внутрішньоклітинною структурою, то назва типу світіння утворюється додаванням частки «-подібний» (наприклад, Гольджі-подібний). Асоціації типів світіння з антигенами та захворюваннями подано в таблиці 3.

patterns belonging to the competent level: Fibrillar Cytoplasmic (AC-15, AC-16, AC-17), Speckled Cytoplasmic (AC-18, AC-19, AC-20), Reticular/Mitochondrion-Like (AMA) (AC-21), Polar/Golgi-Like (AC-22) and rods and rings (AC-23). The nomenclature is based on the nature of the fluorescence observed in the cytoplasm (Fibrillar or Speckled cytoplasmic patterns), as well as the staining of individual structures in the cytoplasm (eg, rods and rings). If there is a strong correlation between the target autoantigen or the intra-cellular structure, then the name of the pattern is formed by adding the particle «-like» (eg, Golgi-like). Associations of pattern with antigens and diseases are presented in Table 3.

Таблиця 3. Попередня номенклатура цитоплазматичнх типів світіння, а також їх асоціації з антигенами та захворюваннями
Table 3. Previous nomenclature of cytoplasmic patterns and association with specific antigens and diseases

Тип світіння / ANA pattern		Попередня номенклатура Previous nomenclature	Асоціація з антигеном Antigen associations	Асоціація із захворюванням Disease association
Волокнистий / Fibrillar	Цитоплазматичний з лінійними волокнами (AC-15) Cytoplasmic fibrillar linear (AC-15)	Актин-подібний Actin-like	Актин, нем'язовий міозин Actin, non-muscle myosin	ЗЗСТ, хронічний активний гепатит, цироз печінки, міастенія гравіс, хвороба Крона, ПБЦ, довготривалий гемодіаліз, рідше при СЗСТ, ніж при ЗЗСТ MCTD, chronic active hepatitis, liver cirrhosis, myasthenia gravis, Crohn's disease, PBC, long-term hemodialysis, rare in SARD other than MCTD
	Цитоплазматичний волокнисто-нитковий (AC-16) Cytoplasmic fibrillar filamentous (AC-16)	–	Віментин, цитокератини, тропоміозин Vimentin, cytokeratins, tropomyosin	Інфекційні чи запальні стани, довготривалий гемодіаліз, алкогольний цироз печінки, СЗСТ, псоріаз, здорові донори Infectious or inflammatory conditions, long-term hemodialysis, alcoholic liver disease, SARD, psoriasis, healthy controls
	Цитоплазматичний з сегментованими волокнами (AC-17) Cytoplasmic fibrillar segmental (AC-17)	–	Альфа-актинін, вінкулін Alpha-actinin, vinculin	Міастенія гравіс, хвороба Крона, виразковий коліт Myasthenia gravis, Crohn's disease, ulcerative colitis
Зернистий / Speckled	Цитоплазматичний щільний дрібнозернистий (AC-19) Cytoplasmic dense fine speckled (AC-19)	Цитоплазматичний гомогенний Homogeneous cytoplasmic	PL-7, PL-12, рибосомальний Р протеїн (RibP) PL-7, PL-12, ribosomal P protein	Антисинтетазний синдром, ПМ/ДМ, СЧВ, ювенільний СЧВ, нейропсихіатричний вовчак «Anti-synthetase syndrome», PM/DM, SLE, juvenile SLE, neuropsychiatric SLE
	Цитоплазматичний дрібнозернистий (AC-20) Cytoplasmic fine speckled (AC-20)	Цитоплазматичний зернистий Speckled	Jo-1/гістидил-тРНК-синтетаза Jo-1/histidy-tRNA synthetase	Антисинтетазний синдром, ПМ/ДМ, лімітована ССД, ідіопатичний плевральний випіт Anti-synthetase syndrome, PM/DM, limited SSc, idiopathic pleural effusion
	Окремі точки в цитоплазмі (AC-18) Cytoplasmic discrete dots/GW body-like (AC-18)	GW (Гліцин-Триптофан) тільця, Р-тільця, лізосомальне світіння* GW body, processing body, lysosome*	GW182, Su/Ago2	ПБЦ, СЗСТ, неврологічні та аутоімунні стани Antisynthetase syndrome, PM/DM, PBC, SARD, neurological and autoimmune conditions
Цитоплазматичний сітчатий/ мітохондріальний (AC-21) Mitochondrial (AC-21)		Мітохондріально-подібний Mitochondrion-like	PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E1α субодиниця of PDC, E3BP/протеїн X PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E1α subunit of PDC, E3BP/protein X	Часто при ПБЦ, ССД, рідко при інших СЗСТ Common in PBC, SSc, rare in other SARD
Цитоплазматичний полярний/ Гольджі-подібний (AC-22) Polar/Golgi-like (AC-22)		–	гіантин/макрогольджин, гольджин-95/GM130, гольджин-160, гольджин-97, гольджин-245 Giantin/macrogolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97, golgin-245	Рідко при СШ, СЧВ, РА, ЗЗСТ, гранулематоз з поліангіїтом, ідіопатична церебелярна атаксія, паранеопластична церебелярна дегенерація, вірусні інфекції Rare in SjS, SLE, RA, MCTD, GPA, idiopathic cerebellar ataxia, paraneoplastic cerebellar degeneration, viral infections
Палички та кільця (AC-23) Rods and rings (AC-23)		–	IMPDH2	Пацієнти з HCV після комбінованої INF/рибавірин терапії, рідко при СЧВ, тиреоїдит Хашимото, здорові донори HCV patients post-IFN/ribavirin therapy, rare in SLE, Hashimoto's and healthy controls

Примітка: *немає молекулярно-біологічних даних, що цей тип світіння асоційований з лізосомальними мішенями.
Notes: *no molecular evidence to support this pattern is associated with lysosomal targets.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Цитоплазматичний волокнистий (AC-15, AC-16, AC-17)

Цитоплазматичний волокнистий тип світіння включає: з лінійними волокнами (AC-15) (рис. 17), волокнисто-нитковий (AC-16) (рис. 18) та з сегментованими волокнами (AC-17) (рис. 19). Цитоплазматичний лінійний тип світіння характеризується світінням волокон цитоскелету, іноді з переривчастими зернистими відкладеннями. Типове забарвлення – посмуговані актинові волокна вздовж довгої осі клітин. Світіння зумовлене, наприклад, анти-актин, анти-нем'язовий міозин антитілами [21]. Цитоплазматичний волокнисто-нитковий тип світіння зумовлений антитілами до мікротрубочок та проміжних філаментів (ниток), які концентруються біля ядра та розповсюджуються в цитоплазму. Наприклад, анти-цитокератин, анти-віментин, анти-тропоміозин. Цитоплазматичний з сегментованими волокнами характеризується вираженим світінням коротких сегментів та періодичних щільних тілець вздовж стресових волокон. Світіння зумовлене, наприклад, анти-альфа-актинін, анти-вінкулін антитілами.

Fibrillar Cytoplasmic (AC-15, AC-16, AC-17)

Fibrillar Cytoplasmic pattern includes: Cytoplasmic fibrillar linear (AC-15) (Figure 17), Cytoplasmic fibrillar filamentous (AC-16) (Figure 18) and Cytoplasmic fibrillar segmental (AC-17) (Figure 19). Cytoplasmic fibrillar linear pattern is characterized by the staining of cytoskeleton fibers, sometimes with intermittent granular deposits. Typical staining is striated actin fibers along the long axis of the cells. The pattern is associated for example, anti-actin, anti-nonmuscle myosin antibodies [21]. Cytoplasmic fibrillar filamentous pattern is caused by antibodies to microtubules and intermediate filaments (threads) which are concentrated near the nucleus and spread into the cytoplasm. For example, anti-cytokeratin, anti-vimentin, anti-tropomyosin. Cytoplasmic fibrillar segmental is characterized by strong staining of short segments and periodic dense bodies along stress fibers. The pattern is associated for example, to anti-alpha-actinin, anti-vinculin antibodies.

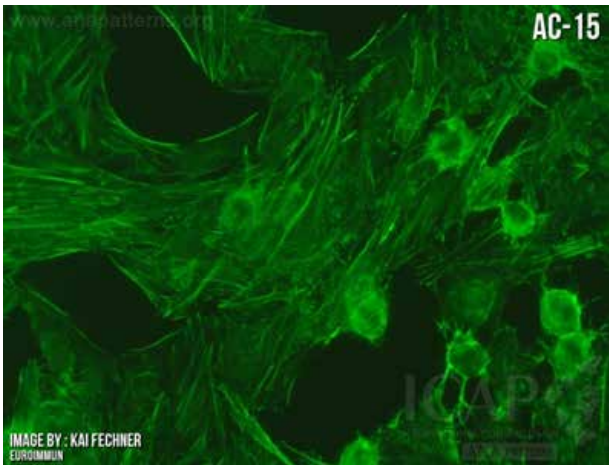


Рис. 17. Цитоплазматичний лінійний тип світіння (AC-15)
Fig. 17. Cytoplasmic fibrillar linear (AC-15)

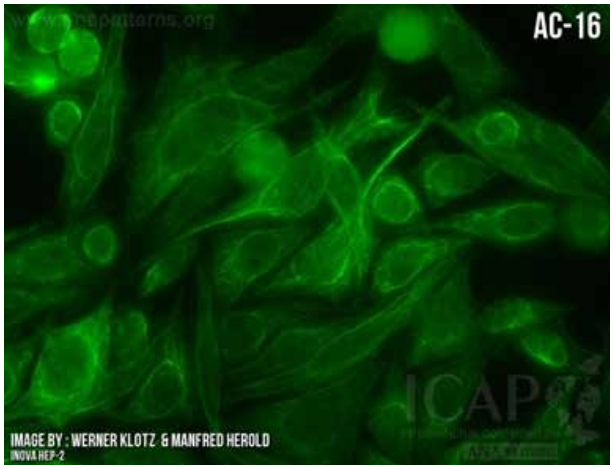


Рис. 18. Цитоплазматичний волокнисто-нитковий тип світіння (AC-16)
Fig. 18. Cytoplasmic fibrillar filamentous (AC-16)

Рис. 19. Цитоплазматичний з сегментованими волокнами тип світіння (AC-17)
Fig. 19. Cytoplasmic fibrillar segmental (AC-17)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Цитоплазматичний зернистий (AC-18, AC-19, AC-20)

До зернистих цитоплазматичних типів світіння належать щільний дрібнозернистий цитоплазматичний (AC-19) (рис. 21) та дрібнозернистий цитоплазматичний (AC-20) (рис. 22). Ряд світінь, що вирізняються кількістю та розташуванням окремих точок у цитоплазмі були класифіковані як окремі точки в цитоплазмі/GW тільця-подібний (AC-18) тип світіння (рис. 20).

Speckled Cytoplasmic (AC-18, AC-19, AC-20)

Speckled Cytoplasmic include Cytoplasmic dense fine speckled (AC-19) (Figure 21) and Cytoplasmic fine speckled (AC-20) (Figure 22). Cytoplasmic fine speckled distinguished by the number and location of discrete dots in the cytoplasm can be classified as Cytoplasmic discrete dots/GW body-like (AC-18) pattern (Figure 20).

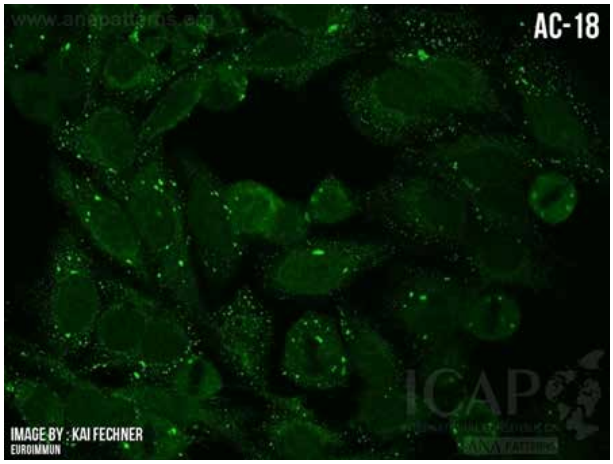


Рис. 20. Окремі точки в цитоплазмі/GW тільця-подібні (AC-18)
Fig. 20. Cytoplasmic discrete dots/GW body-like (AC-18)

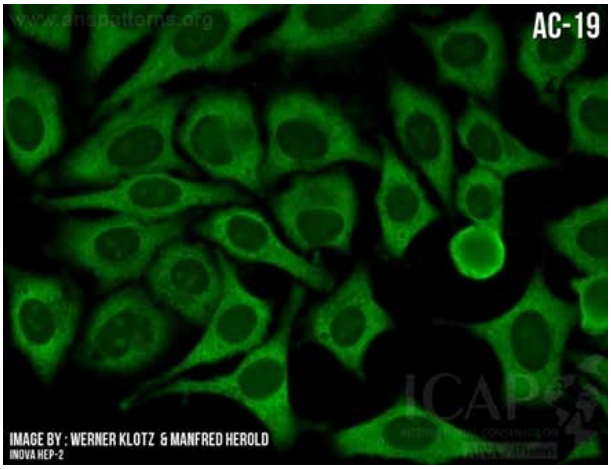


Рис. 21. Цитоплазматичний щільний дрібнозернистий (AC-19)
Fig. 21. Cytoplasmic dense fine speckled (AC-19)

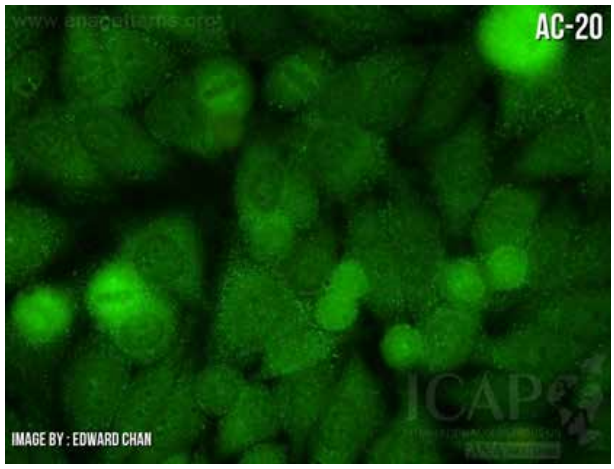


Рис. 22. Цитоплазматичний дрібнозернистий (AC-20)
Fig. 22. Cytoplasmic fine speckled (AC-20)

Окремі точки в цитоплазмі/GW тільця-подібний тип світіння характеризується окремими осередками, відомі як GW (Гліцин-Триптофан)-тільця, що нерівномірно розповсюджені в цитоплазмі, але їх кількість збільшується ближче до ядерної мембрани [22]. Імуноелектронна мікроскопія показала, що GW-тільця мають розмір від 100 до 300 нм та не мають біліпідної мембрани. GW-тільця найменші в ранній S-фазі та більші під час пізньої S- та G2-фази клітинного циклу. Більшість GW-тілець зникає перед початком мітозу, а маленькі GW-тільця знову з'являються в ранній G1-фазі. Відомі такі антигени, що входять до складу GW-тілець: Ge-1/Hedls, GW182 та Su/Ago2. Історично вважалося, що цей тип світіння був зумовлений антилізосомальними антитілами, але лізосомні мішені,

Cytoplasmic discrete dots/GW body-like pattern is characterized by descrete dots, known as GW (Glycine-Tryptophan) bodies, which are unevenly distributed in the cytoplasm, but their number increases closer to the nuclear membrane [22]. Immunoelectron microscopy showed that GW bodies range in size from 100 to 300 nm and do not have a bilipid membrane. GW bodies are smallest in early S phase and larger during late S and G2 phases of the cell cycle. Most GW-bodies disappear before the start of mitosis, and small GW-bodies reappear in the early G1-phase. The following antigens are known to comprise GW bodies: Ge-1/Hedls, GW182 and Su/Ago2. Historically, this pattern was thought to be due to anti-lysosomal antibodies, but the lysosomal targets that exhibit this

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

які демонструють цей тип світіння, не були визначені [23]. У зв'язку з цим, можливо, деякі варіанти номенклатури, що використовуються в деяких публікаціях, є некоректними. Також світіння типу окремі точки в цитоплазмі може бути зумовлене антитілами до ендосомальних антигенів (EEA1, CLIP-170, GRASP-1 та LBPA).

Цитоплазматичний щільний дрібнозернистий тип світіння характеризується зернистим, майже гомогенним світінням всієї цитоплазми. Аутоантитіла, що асоційовані з цим типом світіння, включають PL-7 та PL-12 при ДМ/ПМ та рибосомальний Р протеїн (RibP) при СЧВ, особливо в ювенільній та нейропсихіатричній формі, а також АІГ. Слід зазначити, що цей тип світіння не є ні чутливим, ні специфічним для аутоантитіл, спрямованих до вказаних вище антигенів.

Цитоплазматичний дрібнозернистий тип світіння характеризується світінням поодиноких дрібних крапок в цитоплазмі на гомогенному або щільному дрібнозернистому тлі. Можливі антитіла, що зумовлюють цей тип світіння – антитіла до аміноацил-тРНК-синтетаз, найчастіше до Jo-1 (гістидил-тРНК-синтетази). Основними клінічними асоціаціями є ДМ/ПМ та «антисинтетазний синдром» (міозит, ідіопатична інтерстиціальна хвороба легенів, поліартрит, синдром Рейно та «руки механіка»). Варто зауважити, що існують певні побоювання, що цитоплазматичний дрібнозернистий тип світіння може бути асоційований з HEp-2 клітинами, що використовуються.

pattern have not been identified [23]. In this regard, it is possible that some variants of the nomenclature used in some publications are incorrect. Also, the Cytoplasmic discrete dots pattern can be caused by antibodies to endosomal antigens (EEA1, CLIP-170, GRASP-1 and LBPA).

Cytoplasmic dense fine speckled pattern is characterized by granular, almost homogeneous staining of the entire cytoplasm. Autoantibodies associated with this pattern include PL-7 and PL-12 in DM/PM and ribosomal P protein (RibP) in SLE, especially the juvenile and neuropsychiatric forms, as well as AIH. It should be noted that this pattern is neither sensitive nor specific for autoantibodies directed against the above antigens.

Cytoplasmic fine speckled pattern is characterized by the staining of discrete small dots in the cytoplasm on a homogeneous or dense fine speckled background. Possible antibodies causing this pattern are antibodies to aminoacyl-tRNA synthetases, most often to Jo-1 (histidyl-tRNA synthetase). The main clinical associations are DM/PM and the «antisynthetase syndrome» (myositis, idiopathic interstitial lung disease, polyarthritis, Raynaud's syndrome, and «mechanic hands»). It should be noted that there is some concern that a cytoplasmic granular pattern may be associated with the HEp-2 cells used.

Цитоплазматичний сітчастий/мітохондріальний (AC-21)

Цитоплазматичний сітчастий/мітохондріальноподібний тип світіння (рис. 23) характеризується крупнозернистим світінням ниток по всій цитоплазмі, щільність якого найбільша біля ядра і зменшується в зовнішніх частинах цитоплазми поблизу клітинної мембрани.

Cytoplasmic reticular/AMA (AC-21)

Cytoplasmic reticular/AMA pattern (Figure 23) is characterized by large/coarse speckled staining of threads throughout the cytoplasm, the density of which is greatest near the nucleus and decreases in the outer parts of the cytoplasm near the cell membrane.

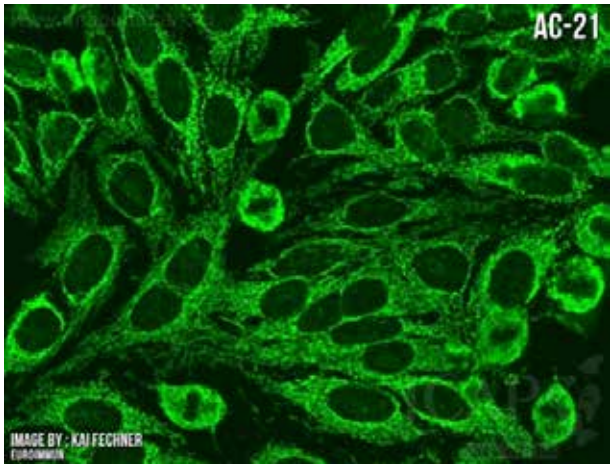


Рис. 23. Цитоплазматичний сітчастий/мітохондріальний (AC-21)
Fig. 23. Cytoplasmic reticular/AMA (AC-21)

Основні аутоантигени локалізовані на внутрішній мембрані мітохондрій та складаються з Е2 компонента 2-оксикислот дегідрогеназного ферментативного комплексу (2-OACD, PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E3BP/білок X) [24]. Світіння центромер, анти-Sp100,

The main autoantigens are localized on the inner membrane of mitochondria and consist of the E2 component of the 2-oxyacid dehydrogenase enzymatic complex (2-OACD, PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E3BP/protein X) [24]. Fluorescence of centromeres, anti-Sp100,

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ядерної мембрани, анти-GW тілець може виявлятися разом з антимітохондріальним світінням (АМА). Більш того, одночасне виявлення типів світіння асоційованих з АМА (АС-21) та анти-Sp100 антитілами (АС-6), може вказувати на первинний біліарний цироз (ПБЦ), навіть за декілька десятків років до розвитку ПБЦ. Наявність антитіл до центромер може бути індикатором вже існуючої або прогресуючої обмеженої шкірної форми склеродерми, а у деяких пацієнтів ПБЦ може розвинутись на тлі клінічних проявів хвороби.

nuclear membrane, anti-GW bodies can be detected together with antimitochondrial fluorescence (AMA). Moreover, the simultaneous detection of patterns associated with AMA (AC-21) and anti-Sp100 antibodies (AC-6) may indicate primary biliary cirrhosis (PBC), even several decades before the development of PBC. The presence of antibodies to centromeres can be an indicator of already existing or progressive limited skin form of scleroderma, and in some patients PBC can develop against the background of clinical manifestations of the disease.

Цитоплазматичний полярний/Гольджі-подібний (АС-22)

Цей тип світіння характеризується зернистим навколоядерним світінням у вигляді гранул та стрічок, полярно розташованих на одному полюсі клітини в цитоплазмі, що відповідають комплексу Гольджі (рис. 24). Відомі антигени, що асоційовані з цим типом світіння включають гіантин/макрогольджин, гольджин-95/GM130, гольджин-160, гольджин-97, гольджин-245 [25, 26].

Cytoplasmic polar/Golgi-like (AC-22)

This pattern is characterized by granular near-nuclear fluorescence in the form of perinuclear arrangement of coarse granules or lamellae polarly located at one pole of the cell in the cytoplasm, corresponding to the Golgi complex (Figure 24). Known antigens associated with this pattern include giantin/macroholgin, holgin-95/GM130, holgin-160, holgin-97, holgin-245 [25, 26].

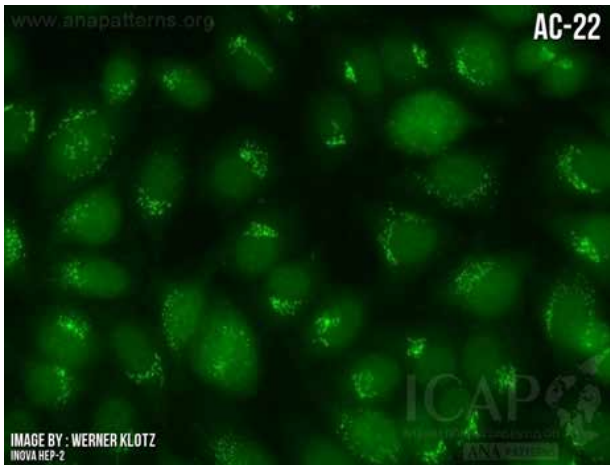


Рис. 24. Цитоплазматичний полярний/Гольджі-подібний (АС-22)
Fig. 24. Cytoplasmic polar/Golgi-like (AC-22)

Палички та кільця (АС-23)

У деяких виробниках HEp-2 клітин для АНА скринінгу [6, 27, 28] тип світіння палички та кільця (рис. 25) представлено двома різними групами: як окремі волокнисті «палички» 3–10 мм у довжину, так і округлі «кільця» 2–5 мм у діаметрі [29]. Обидві форми світіння переважно спостерігаються у цитоплазмі, хоча маленькі структури часто знаходять у ядрі за умов, сприятливих формуванню паличок та кілець у клітинах. Цей тип світіння не асоційований з жодною відомою органелою клітини. Зазвичай 1–2 палички та кільця знаходяться у кожній клітині. Основний аутоантиген – інозин монофосфат дегідрогеназа 2 (IMPDH2), фермент, який регулює швидкість гуанозин-трифосфат біосинтетичного циклу [29, 30].

Найбільш часто виявляється у пацієнтів з гепатитом С, що пройшли курс лікування комбінацією пегільованого інтерферону альфа та рибавірину.

Rods and rings (AC-23)

Some manufacturers of HEp-2 cells for ANA screening [6, 27, 28] the rod and ring pattern (Figure 25) is represented by two different groups: as discrete filamentous «rods», and annular «rings» 2–5 mm in diameter [29]. Both forms of fluorescence are mainly observed in the cytoplasm, although small structures are often found in the nucleus under conditions favorable to the formation of rods and rings in cells. This pattern is not associated with any known cell organelle. Usually 1–2 rods and rings are in each cell. The main autoantigen is inosine monophosphate dehydrogenase 2 (IMPDH2), an enzyme that regulates the rate of the guanosine triphosphate bisynthetic cycle [29, 30].

It is most often found in patients with hepatitis C treated with a combination of pegylated interferon alpha and ribavirin.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

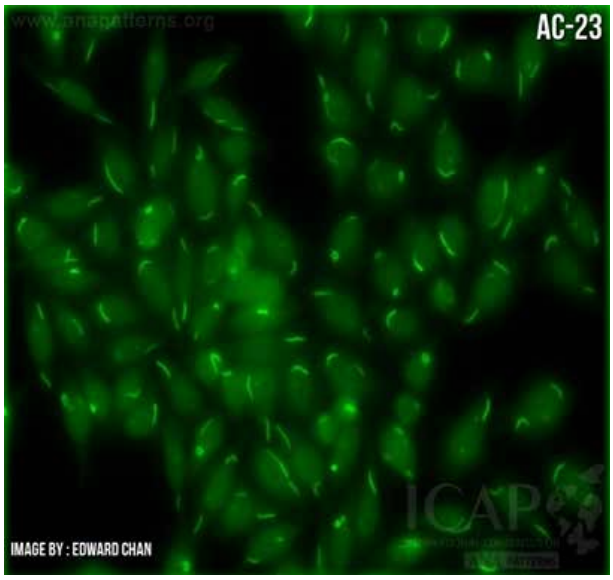


Рис. 25. Палички та кільця (AC-23)
Fig. 25. Rods and rings (AC-23)

Мітотичний тип світіння

Типи світіння, які стосуються клітинних доменів, сильно пов'язаних із мітозом, класифікуються як мітотичні. Деякі типи світіння, які виявлялись у доменах, не пов'язаних виключно з мітозом, класифікували як мітотичні типи, якщо вони мали відмінні риси під час мітозу. Прикладом першого є центросоми, які легко розпізнати як дві яскраві точки в мітотичній клітині, зазвичай розташовані на протилежних сторонах метафазної пластинки, але в інтерфазній цитоплазмі видно одну менш яскраву та менш специфічну точку. Іншим прикладом є NuMA-подібний тип світіння (AC-26), що характеризується зернистим світінням інтерфазних ядер, а також характерним світінням перицентріолярної ділянки та веретена поділу. Тому NuMA-подібний тип світіння класифікували як мітотичний. Типові асоціації з аутоантигенами та захворюваннями підсумовані в таблиці 4.

Mitotic pattern

Patterns that relate to cellular domains strongly associated with mitosis are classified as mitotic. Some patterns that appeared in domains not exclusively associated with mitosis were classified as mitotic if they had distinct features during mitosis. An example of the former is centrosomes, which are easily recognized as two bright dots in a mitotic cell, usually located on opposite sides of the metaphase plate, but one less bright and less specific dot is visible in the interphase cytoplasm. Another example is a NuMA-like pattern (AC-26), which is characterized by a speckled staining of interphase nuclei, as well as a characteristic staining of the pericentriolar region and the spindle fibers. Therefore, the NuMA-like pattern was classified as mitotic. Typical associations with autoantigens and diseases are summarized in Table 4.

Таблиця 4. Попередня номенклатура мітотичних типів світіння, а також їх асоціації з антигенами та захворюваннями
Table 4. Previous nomenclature of mitotic patterns and association with specific antigens and diseases

Тип світіння / ANA pattern	Попередня номенклатура Previous nomenclature	Асоціація з антигеном Antigen associations	Асоціація із захворюванням Disease association
Центросоми (AC-24) Centrosome (AC-24)	Центріолі Centrioles	Pericentrin, ninein, Cep250, Cep110	Рідко при ССД, хвороба Рейно, інфекції (вірусні та мікоплазма) Rare in SSc, Raynaud's phenomenon, infections (viral and mycoplasma)
Веретено поділу (A-25) Spindle fibers (A-25)	MSA-2	HsEg5	Рідко при СШ, СЧВ, інших СЗСТ Rare in SjS, SLE, other SARD
NuMA-подібний (AC-26) NuMA-like (AC-26)	MSA-1, центрофілін MSA-1, centrophilin	NuMA NuMA	СШ, СЧВ, інші SjS, SLE, other
Міжклітинний місток (AC-27) Intercellular bridge (AC-27)	Серединне тіло, тільце Флемінга Stem body, midbody	CENP-E, CENP-F, TD60, MSA36, KIF-14, MKLP-1, MPP1/KIF20B та INCENP CENP-E, CENP-F, TD60, MSA36, KIF-14, MKLP-1, MPP1/KIF20B and INCENP	Рідко при ССД, хвороба Рейно, злоякісних пухлинах Rare in SSc, Raynaud's phenomenon, malignancy
Оболонка мітотичної хромосоми (AC-28) Mitotic chromosomal (AC-28)	Білок оболонки хромосом, антиген клітин, що діляться, антиген мітотичних хромосом (MCA) Chromosome coat protein, dividing cell antigen, mitotic chromosome autoantigen (MCA)	Модифікований гістон H3, MCA-1 Modified histone H3, MCA-1	Рідко при дискоїдному СЧВ, хронічному лімфолейкозу, СШ та ревматичній поліміалгії Rare in discoid lupus erythematosus, chronic lymphocytic leukemia, SjS, and polymyalgia rheumatica

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Центросоми (AC-24)

Тип світіння центросоми (AC-24) (рис. 26) подається частіше у вигляді окремих центріолей (1–2 на клітину) в інтерфазній цитоплазмі та на полюсах веретена поділу клітин у мітозі. В період між метафазою і профазою відстань між двома яскравими точками збільшується з наближенням метафази. У інтерфазних клітинах одна точка у більшості клітин розташована відносно ближче до ядерної мембрани. У деяких інтерфазних клітинах, зазвичай у G2-період, можуть бути присутні дві точки розташовані поруч. Центросома – це специфічна ділянка цитоплазми, що містить ортогонально розташовані центріолі, які оточені аморфною масою протеїнів. Термін «світіння за типом антитіл до центріолей» раніше використовувався як синонім, проте було показано, що антитіла саме до центріолей виявлялися рідко. Тому варто віддавати перевагу терміну «тип світіння центросома». Ключовими антигенами може бути безліч компонентів центросоми, у тому числі енолаза [31], перицентрин (pericentrin), PCM-1, нінеїн (ninein), та Cep250 [32].

Centrosomes (AC-24)

The centrosome pattern (AC-24) (Figure 26) is represented more often in the form of separate centrioles (1–2 per cell) in the interphase cytoplasm and at the poles of the cell division spindle in mitosis. In the period between metaphase and prophase, the distance between two bright dots increases as metaphase approaches. In interphase cells, one dot is located relatively closer to the nuclear membrane in most cells. In some interphase cells, usually in the G2 period, two dots may be present side by side. A centrosome is a specific area of the cytoplasm containing orthogonally arranged centrioles surrounded by an amorphous mass of proteins. The term «anti-centriole-pattern» was previously used as a synonym, but it was shown that anti-centriole antibodies were rarely detected. Therefore, it is worth giving preference to the term «centrosome pattern». Key antigens can be many components of the centrosome, including enolase [31], pericentrin, PCM-1, ninein, and Sep250 [32].

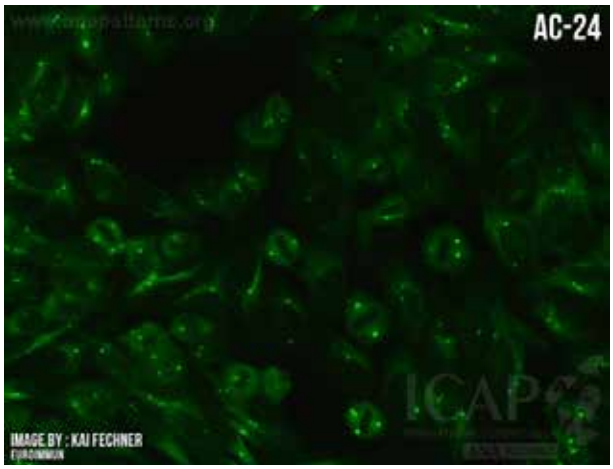


Рис. 26. Центросоми (AC-24)
Fig. 26. Centrosome (AC-24)

Веретено поділу (AC-25, AC-26)

Світіння за типом антитіл до веретена поділу існує в декількох варіантах. Під час мітозу між полюсами клітини спостерігається світіння волокон веретена поділу характерної конусоподібної форми. Світіння волокон веретена поділу включає як не-NuMA-подібний (AC-25) (рис. 27), так і NuMA-подібний (AC-26) (рис. 28) тип світіння.

Не-NuMA-подібний тип світіння або веретено поділу (AC-25) включає світіння волокон веретена поділу та центросом, але без світіння метафазної пластинки або постійного забарвлення інтерфазного ядра. У профазних клітинах цей тип світіння виглядає як світіння центросом, у метафазних та анафазних клітинах – присутнє специфічне світіння усього апарату поділу. У телофазі спостерігається світіння країв міжклітинного містку. У деяких сироватках можна спостерігати також світіння серединного тіла. Основним антигеном є білок HsEg5, кінезин-подібний білок масою 130 кДа, який залучений до збірки мікротрубочок веретена поділу [33].

Spindle fibers (AC-25, AC-26)

Autoantibodies to spindle fibers have been reported in several variants. During mitosis, between the poles of the cell, there is a staining of spindle fibers of a characteristic cone-like shape. Spindle fibers pattern includes both non-NuMA-like (AC-25) (Figure 27) and NuMA-like (AC-26) (Figure 28) pattern.

Non-NuMA-like or spindle fibers pattern (AC-25) includes staining spindle fibers and centrosomes, but without staining of the metaphase plate or the interphase nucleus. In prophase cells, this pattern looks like the fluorescence of centrosomes, in metaphase and anaphase cells, a specific fluorescence of the entire division apparatus is present. In telophase, the edges of the intercellular bridge are stained. In some sera, the midbody staining might be observed. The main antigen is the HsEg5 protein, a kinesin-like protein of 130 kDa, which is involved in the assembly of spindle microtubules [33].

NuMA-like pattern (AC-26), classified as a subtype of spindle fibers pattern that cannot be identified on

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

NuMA-подібний тип світіння (AC-26), класифікований як підтип світіння веретена поділу, що не може бути ідентифікованим на одній клітині, тому що потребує спостереження за клітинами в різних періодах клітинного циклу. NuMA-подібний тип світіння асоційований із зернистим світінням нуклеоплазми, зазвичай у високих титрах та без світіння ядерець. Клітини у метафазі та анафазі демонструють виражене забарвлення полюсів та проксимальних частин веретена поділу, що також описані як трикутні або бананоподібні зони на полюсах клітини. Внутрішня частина центросоми не забарвлена та має вигляд кільця. У телофазних клітинах міжклітинний місток не забарвлений, у той час як інтенсивність забарвлення ядра, що формується, збільшується з прогресуванням телофазного періоду клітини. Ключовим антигеном є білок центрофілін, 210 кДа, який локалізований не тільки у перисомальному регіоні мітотичних клітин, але й у ядерному матриксі в інтерфазі [34].

a single cell because it requires observation of cells at different periods of the cell cycle. The NuMA-like pattern is associated with speckled staining of the nucleoplasm, usually in high titers and without staining of nucleoli. Cells in metaphase and anaphase show pronounced staining of the poles and proximal parts of the division spindle, also described as triangular or banana-shaped zones at the cell poles. The inner part of the centrosome is not stained, but has the annular appearance. In telophase cells, the intercellular bridge is not stained, while the intensity of staining of the forming nucleus increases with the progression of the cell's telophase period. The key antigen is the protein centrophilin, 210 kDa, which is localized not only in the perisomal region of mitotic cells, but also in the nuclear matrix in interphase [34].

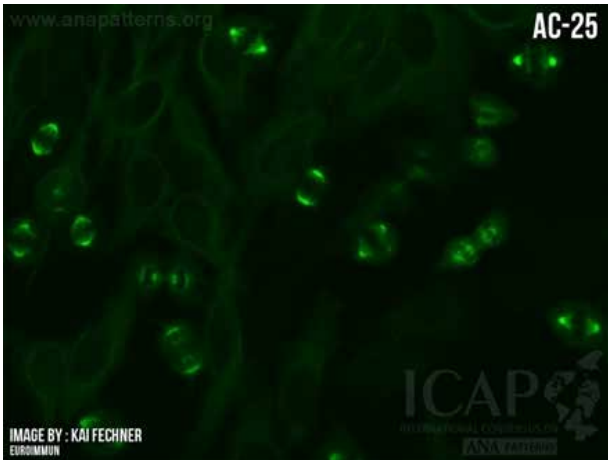


Рис. 27. Веретено поділу (AC-25)
Fig. 27. Spindle fibers (AC-25)

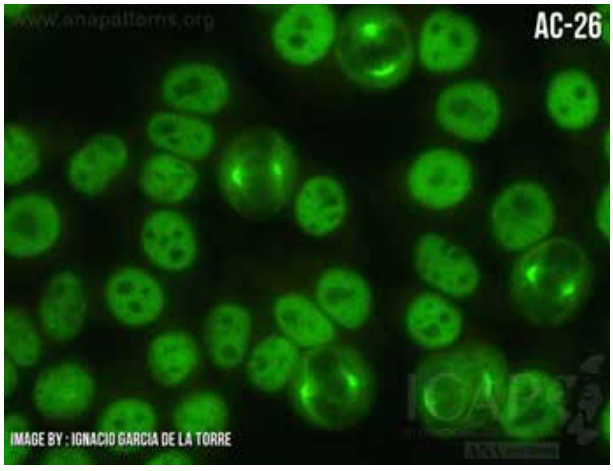


Рис. 28. NuMA-подібний (AC-26)
Fig. 28. NuMA-like (AC-26)

Міжклітинний місток (AC-27)

Тип світіння міжклітинний місток (рис. 29) охоплює світіння клітинних структур останніх фаз мітозу, наприклад, телофази та цитокінезу: борозни поділу, скоротливого кільця, серединного тіла та інших. Цей тип світіння майже не проявляється в інтерфазі, але під час профази та метафази може спостерігатися світіння хромосомного матеріалу на межі метафазної пластинки у вигляді блискавко-подібних смуг. У телофазних клітинах світіння зазвичай обмежене борозною поділу та двома яскравими плямами на межі розташування двох дочірніх клітин перед розходженням. В інтерфазі, а саме у фазі S і G2, ядра можуть мати точкове або неоднорідне зернисте світіння [35].

Серединне тіло формується під час розходження клітин у процесі цитокінезу. Воно походить від центрального веретена поділу в анафазі та пізніше середньої зони в телофазі. Було рекомендовано, щоб термін «серединне тіло» використовувався для типу світіння, що виникає лише під час виявлення антитіл виключно до серединного тіла, тобто до центральної частини в межах міжклітинного містку. Серединне тіло складається з більш ніж 150 різних компонентів, структурних і багатьох моторних білків

Intercellular bridge (AC-27)

Intercellular bridge pattern (Figure 29) covers the flourescence of cellular structures of the last phases of mitosis, for example, telophase and cytokinesis: the cleavage furrow, the contractile ring, the midbody region etc. This pattern is almost absent in interphase, while during prophase and metaphase, chromosomal material can be stained at the edge of the metaphase plate in the form of lightning-like streaks. In telophase cells, the staining is usually limited to the cleavage furrow and two bright spots at the border of the two daughter cells before separation. In the interphase, namely in the S and G2 phase, the nuclei may have a discrete or patchy nuclear speckles [35].

The midbody is formed during the separation of the two cells in the process of cytokinesis. It originates from the central spindle in anaphase and later from the midzone in telophase. It was recommended that the term «midbody» be used for the pattern that occurs only when antibodies are detected exclusively to the midbody, that is, to the central part within the intercellular bridge. The midbody consists of more than 150 different components, structural and many motor proteins (kinesins).Antibodies to kinesin are

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

(кінезинів). Антитіла до кінезину характеризуються світінням лише середньої зони та серединного тіла [36]. Цільові антигени, що розпізнаються аутоантитілами, не були повністю ідентифіковані, але аврора-кіназа В [37], фермент, який бере участь у прикріпленні мітотичних веретен до центромерів, є можливим кандидатом. Деякі антигени, такі як CENP-E, MSA-2, KIF-14 і MKLP-1, також вважаються білками серединного тіла.

characterized by flourescence of only the middle zone and the midbody [36]. The target antigens recognized by the autoantibodies have not been fully identified, but aurora kinase B [37], an enzyme involved in the attachment of mitotic spindles to centromeres, is a possible candidate. Some antigens, such as CENP-E, MSA-2, KIF-14, and MKLP-1, are also considered midbody proteins.

Рис. 29. Міжклітинний місток (AC-27)
Fig. 29. Intercellular bridge (AS-27)

Оболонка мітотичної хромосоми (AC-28)

Точкове світіння хромосом у про- та метафазі без світіння інтерфазних клітин (рис. 30). Внутрішня частина конденсованих хромосом залишається незабарвленою, як і нуклеоплазма інтерфазних клітин [38]. Але оскільки аутоантигени не були описані, справжню поширеність аутоантитіл ще належить визначити. Включення цієї моделі може стимулювати подальші дослідження.

Mitotic chromosomal (AC-28)

Fine granular staining of the chromosomal surface in proto- and metaphase without staining of interphase cells (Figure 30). The inner part of condensed chromosomes remains unstained, as does the nucleoplasm of interphase cells [38]. However, since autoantigens have not been described, the true prevalence of autoantibodies remains to be determined. The inclusion of this pattern may stimulate further research.

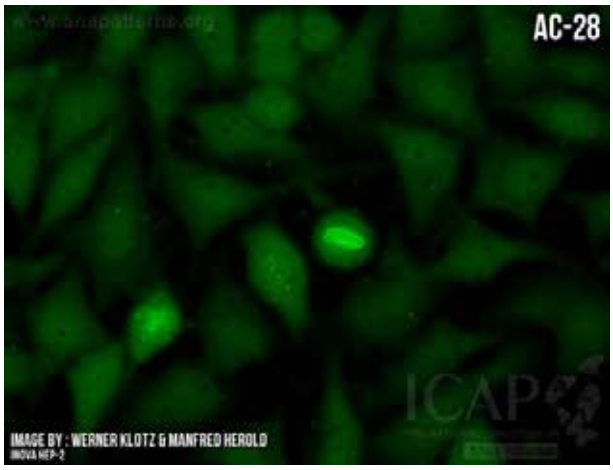


Рис. 30. Оболонка мітотичної хромосоми (AC-28)
Fig. 30. Mitotic chromosomal coat (AC-28)

ВИСНОВКИ

АНА є важливими лабораторними маркерами діагностики, а також прогнозування розвитку таких хвороб як СЧВ, синдром Шегрена, системна склеро-

CONCLUSIONS

ANA are important laboratory markers for diagnosis, as well as for predicting the development of such diseases as SLE, Sjogren's syndrome, systemic

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

дермія, змішане захворювання сполучної тканини та ін. Зазвичай, ці захворювання вважаються АНА-асоційованими ревматичними захворюваннями.

Згідно з рекомендаціями Міжнародної погоджувальної групи типів світіння антиядерних антитіл (АЯА) тип світіння HEp-2 клітин мають вказуватися у відповідності до номенклатури ICAP. З огляду на рекомендації EFLM, EASI та ICAP, для того, щоб максимально передати клінічно значущу інформацію, результати HEp-2 скринінгу необхідно представляти не тільки з вказаним типом світіння HEp-2 клітин, а й титром (найбільше розведення, що дає позитивний результат) та скринінговим розведенням, що використовується.

Щоб забезпечити однорідність зчитування результатів РНІФ на HEp-2 клітинах, технічні спеціалісти, які читають слайди, повинні проходити регулярне навчання та оцінювання. Для оптимізації та вдосконалення зчитування типів світіння необхідно створити навчальні та тренувальні програми.

Якість РНІФ на HEp-2 клітинах має забезпечуватися створеними навчальними та тренувальними програмами й оцінюватися внутрішніми (відмінностями між спостерігачами) і зовнішніми програмами оцінки якості [2].

scleroderma, mixed connective tissue disease, etc. Usually, these diseases are considered ANA-associated rheumatic diseases.

the International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP). The fluorescence pattern of HEp-2 cells should be indicated in accordance with the ICAP nomenclature. In view of EFLM, EASI and ICAP recommendations, in order to convey the most clinically relevant information, HEp-2 screening results should be presented not only with the indicated HEp-2 pattern, but also with the titer (highest dilution that gives a positive result) and the screening dilution used.

To ensure consistency in the reading of IIFT results on HEp-2 cells, technicians who read the slides should undergo regular training and evaluation. In order to optimize and improve the reading of ANA patterns, it is necessary to create educational and training programs.

The quality of IIFT on HEp-2 cells should be ensured by established educational and training programs and assessed by internal (interobserver differences) and external quality assessment programs [2].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cruvinel W.de M., Andrade L.E.C., Dellavance A., Ximenes A.C., Bichara C.D.A., Mangueira C.L.P. et al. VI Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on HEp-2 cells. A*dvances in Rheumatology.* 2022. Т. 62, № 1. P. 1–11. URL: https://advancesinrheumatology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42358-022-00266-z
2. Bonroy C., Vercammen M., Fierz W., Andrade L.E.C., Hoovels L.Van, Infantino M. et al. Detection of antinuclear antibodies: recommendations from EFLM, EASI and ICAP. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2023. URL: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2023-0209/html?lang=en
3. Chan E.K.L., Damoiseaux J., Carballo O.G., Conrad K., de Melo Cruvinel W., Francescantonio P.L.C. et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns (ICAP) 2014–2015. *Frontiers in Immunology*. 2015. Т. 6. 412 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00412
4. Keppeke G.D., Nunes E., Ferraz M.L.G., Silva E.A.B., Granato C., Chan E.K. L. et al. Longitudinal Study of a Human Drug-Induced Model of Autoantibody to Cytoplasmic Rods/Rings following HCV Therapy with Ribavirin and Interferon-α. *PLoS One*. 2012. Т. 7, № 9. e45392 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045392
5. Stinton L.M., Myers R.P., Coffin C.S., Fritzler M.J. Clinical associations and potential novel antigenic targets of autoantibodies directed against rods and rings in chronic hepatitis C infection. *BMC Gastroenterology.* 2013. Т. 13, № 1. DOI: https://doi.org/10.1186/1471-230X-13-50
6. Covini G., Carcamo W.C., Bredi E., von Mühlen C.A., Colombo M., Chan E.K.L. Cytoplasmic rods and rings autoantibodies developed during pegylated interferon and ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *Antiviral Therapy.* 2012. Т. 17, № 5. P. 805–811. DOI: https://doi.org/10.3851/IMP1993
7. Basu A., Sanchez T.W., Casiano C. A. DFS70/LEDGFp75: An enigmatic autoantigen at the interface between autoimmunity, AIDS, and cancer. *Frontiers in Immunology.* 2015. Т. 6. 116 c. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00116
8. Ochs R.L., Mura Y., Si Y., Ge H., Chan E.K.L., Mtan E. Autoantibodies to DPS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2000. Т. 105, № 6(II). P. 1211–1220. URL: http://www.jacionline.org/article/S0091674900700595/fulltext
9. Mahler M., Parker T., Peebles C.L., Andrade L.E., Swart A., Carbone Y., et al. Anti-DFS70/LEDGF Antibodies Are More Prevalent in Healthy Individuals Compared to Patients with Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases. *The Journal of Rheumatology.* 2012. Т. 39, № 11. P. 2104–2110. URL: https://www.jrheum.org/content/39/11/2104

REFERENCES

1. Cruvinel W de M, Andrade LEC, Dellavance A, Ximenes AC, Bichara CDA, Mangueira CLP, et al. VI Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on HEp-2 cells. *Advances in Rheumatology.* 2022;62(1):1–11. URL: https://advancesinrheumatology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42358-022-00266-z
2. Bonroy C, Vercammen M, Fierz W, Andrade LEC, Hoovels L Van, Infantino M, et al. Detection of antinuclear antibodies: recommendations from EFLM, EASI and ICAP. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2023. URL: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2023-0209/html?lang=en
3. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PLC, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns (ICAP) 2014–2015. *Frontiers in immunology*. 2015;6:412. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00412
4. Keppeke GD, Nunes E, Ferraz MLG, Silva EAB, Granato C, Chan EKL, et al. Longitudinal Study of a Human Drug-Induced Model of Autoantibody to Cytoplasmic Rods/Rings following HCV Therapy with Ribavirin and Interferon-α. *PLoS One.* 2012;7(9):e45392. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045392
5. Stinton LM, Myers RP, Coffin CS, Fritzler MJ. Clinical associations and potential novel antigenic targets of autoantibodies directed against rods and rings in chronic hepatitis C infection. *BMC gastroenterology.* 2013;13(1). DOI: https://doi.org/10.1186/1471-230X-13-50
6. Covini G, Carcamo WC, Bredi E, von Mühlen CA, Colombo M, Chan EKL. Cytoplasmic rods and rings autoantibodies developed during pegylated interferon and ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *Antiviral therapy.* 2012;17(5):805–11. DOI: https://doi.org/10.3851/IMP1993
7. Basu A, Sanchez TW, Casiano CA. DFS70/LEDGFp75: An enigmatic autoantigen at the interface between autoimmunity, AIDS, and cancer. *Frontiers in immunology.* 2015;6:116. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00116
8. Ochs RL, Mura Y, Si Y, Ge H, Chan EKL, Mtan E. Autoantibodies to DPS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2000;105(6 II):1211–20. URL: http://www.jacionline.org/article/S0091674900700595/fulltext
9. Mahler M, Parker T, Peebles CL, Andrade LE, Swart A, Carbone Y, et al. Anti-DFS70/LEDGF Antibodies Are More Prevalent in Healthy Individuals Compared to Patients with Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases. *The Journal of rheumatology*. 2012;39(11):2104–10. URL: https://www.jrheum.org/content/39/11/2104

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

10. Muro Y., Sugiura K., Morita Y., Tomita Y. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody–positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus*. 2008. T. 17, №3. P. 171–176. DOI: http://dx.doi.org/101177/0961203307086311
11. Mahler M., Hanly J.G., Fritzler M.J. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*. 2012. T. 11, № 9. P. 642–645. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.11.005
12. Mahler M., Fritzler M. J. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Clinical & Developmental Immunology.* 2012. Vol. 2012. 494356 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/494356
13. Andrade L.E.C., Klotz W., Herold M., Conrad K., Rönnelid J., Fritzler M.J., et al. International consensus on antinuclear antibody patterns: Definition of the AC-29 pattern associated with antibodies to DNA topoisomerase I. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018. T. 56, № 10. P. 1783–1788. URL: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2018-0188/html
14. Stinton L.M., Swain M., Myers R.P., Shaheen A.A., Fritzler M.J. Autoantibodies to GW bodies and other autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Clinical and Experimental Immunology.* 2011. T. 163, № 2. P. 147–156. URL: https://academic.oup.com/cei/article/163/2/147/6428819
15. Sternsdorf T., Guldner H.H., Szostecki C., Grötzinger T., Will H. Two Nuclear Dot-Associated Proteins, PML and Sp100, are Often Co-Autoimmunogenic in Patients with Primary Biliary Cirrhosis. *Scandinavian Journal of Immunology*. 1995. T. 42, № 2. P. 257–268. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3083.1995.tb03652.x
16. Ceribelli A., Fredi M., Taraborelli M., Cavazzana I., Franceschini F., Quinzanini M., et al. Anti-MJ/NXP-2 autoantibody specificity in a cohort of adult Italian patients with polymyositis/dermatomyositis. *Arthritis Research & Therapy.* 2012. T. 14, № 2. P. 1–6. URL: https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3822
17. Andrade L.E.C., Tan E.M., Chan E.K.L. Immunocytochemical analysis of the coiled body in the cell cycle and during cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993. T. 90, № 5. P. 1947–1951. URL: https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.90.5.1947
18. Andrade L.E.C., Chan E.K.L., Raska I., Peebles C.L., Roos G., Tan E.M. Human autoantibody to a novel protein of the nuclear coiled body: immunological characterization and cDNA cloning of p80-coilin. *Journal of Experimental Medicine.* 1991. T. 173, № 6. P. 1407–1419. URL: http://rupress.org/jem/article-pdf/173/6/1407/1101681/1407.pdf
19. Satoh M., Chan J.Y.F., Ross S.J., Ceribelli A., Cavazzana I., Franceschini F., et al. Autoantibodies to survival of motor neuron complex in patients with polymyositis: Immunoprecipitation of D, E, F, and G proteins without other components of small nuclear ribonucleoproteins. *Arthritis and Rheumatism.* 2011. T. 63, № 7. P. 1972–1978. DOI: https://doi.org/10.1002/art.30349
20. Raška I., Ochs R.L., Andrade L.E.C., Chan E.K.L., Burlingame R., Peebles C., et al. Association between the nucleolus and the coiled body. *Journal of Structural Biology*. 1990. T. 104, № 1–3. P. 120–127. DOI: https://doi.org/10.1016/1047-8477(90)90066-I
21. von Muhlen C.A., Chan E.K.L., Peebles C.L., Imai H., Kiyosawa K., Tan E. M. Non-muscle myosin as target antigen for human autoantibodies in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver diseases. *Clinical and Experimental Immunology.* 2008. T. 100, № 1. P. 67–74. URL: https://academic.oup.com/cei/article/100/1/67/6484051
22. Fritzler M.J., Chan E.K.L. The Discovery of GW Bodies. 2013. P. 5–21. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-5107-5_2
23. Moser J.J., Fritzler M.J. Relationship of other cytoplasmic ribonucleoprotein bodies (cRNPB) to GW/P bodies. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2013. T. 768. P. 213–242. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-5107-5_13
24. Nakamura M. Clinical significance of autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Seminars in Liver Disease*. 2014. T. 34, № 3. P. 334–340. URL: http://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/s-0034-1383732
25. Nozawa K., Fritzler M.J., Chan E.K.L. Unique and shared features of Golgi complex autoantigens. *Autoimmunity Reviews*. 2005. T. 4, № 1. P. 35–41. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2004.06.002
26. Nozawa K., Fritzler M.J., von Mühlen C.A., Chan E.K.L., Chan E.K. Giantin is the major Golgi autoantigen in human anti-Golgi complex sera. *Arthritis Research & Therapy.* 2003. T. 6, № 2. P. 1–8. URL: https://link.springer.com/articles/10.1186/ar1035
27. Keppeke G.D., Nunes E., Ferraz M.L.G., Silva E.A.B., Granato C., Chan E.K.L., et al. Longitudinal Study of a Human Drug-Induced Model of Autoantibody to Cytoplasmic Rods/Rings following HCV Therapy with Ribavirin and Interferon-α. *PLoS One.* 2012. T. 7, № 9. e45392 p. URL: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0045392

10. Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody–positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus*. 2008;17(3):171–6. http://dx.doi.org/101177/0961203307086311
11. Mahler M, Hanly JG, Fritzler MJ. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews.* 2012;11(9):642–5. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.11.005
12. Mahler M, Fritzler MJ. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Clinical & developmental immunology.* 2012;2012:494356. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/494356
13. Andrade LEC, Klotz W, Herold M, Conrad K, Rönnelid J, Fritzler MJ, et al. International consensus on antinuclear antibody patterns: Definition of the AC-29 pattern associated with antibodies to DNA topoisomerase I. *Clinical chemistry and laboratory medicin*e. 2018;56(10):1783–8. URL: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2018-0188/html
14. Stinton LM, Swain M, Myers RP, Shaheen AA, Fritzler MJ. Autoantibodies to GW bodies and other autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Clinical and experimental immunology.* 2011;163(2):147–56. URL: https://academic.oup.com/cei/article/163/2/147/6428819
15. Sternsdorf T, Guldner HH, Szostecki C, Grötzinger T, Will H. Two Nuclear Dot-Associated Proteins, PML and SplOO, are Often Co-Autoimmunogenic in Patients with Primary Biliary Cirrhosis. *Scandinavian journal of immunology.* 1995;42(2):257–68. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3083.1995.tb03652.x
16. Ceribelli A, Fredi M, Taraborelli M, Cavazzana I, Franceschini F, Quinzanini M, et al. Anti-MJ/NXP-2 autoantibody specificity in a cohort of adult Italian patients with polymyositis/dermatomyositis. *Arthritis research & therapy.* 2012;14(2):1–6. URL: https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3822
17. Andrade LEC, Tan EM, Chan EKL. Immunocytochemical analysis of the coiled body in the cell cycle and during cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1993;90(5):1947–51. URL: https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.90.5.1947
18. Andrade LEC, Chan EKL, Raska I, Peebles CL, Roos G, Tan EM. Human autoantibody to a novel protein of the nuclear coiled body: immunological characterization and cDNA cloning of p80-coilin. *Journal of Experimental Medicine.* 1991;173(6):1407–19. URL: http://rupress.org/jem/article-pdf/173/6/1407/1101681/1407.pdf
19. Satoh M, Chan JYF, Ross SJ, Ceribelli A, Cavazzana I, Franceschini F, et al. Autoantibodies to survival of motor neuron complex in patients with polymyositis: Immunoprecipitation of D, E, F, and G proteins without other components of small nuclear ribonucleoproteins. *Arthritis and rheumatism.* 2011l;63(7):1972–8. DOI: https://doi.org/10.1002/art.30349
20. Raška I, Ochs RL, Andrade LEC, Chan EKL, Burlingame R, Peebles C, et al. Association between the nucleolus and the coiled body. *Journal of structural biology.* 1990;104(1–3):120–7. DOI: https://doi.org/10.1016/1047-8477(90)90066-I
21. von Muhlen CA, Chan EKL, Peebles CL, Imai H, Kiyosawa K, Tan EM. Non-muscle myosin as target antigen for human autoantibodies in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver diseases. *Clinical and experimental immunology.* 2008;100(1):67–74. URL: https://academic.oup.com/cei/article/100/1/67/6484051
22. Fritzler MJ, Chan EKL. The Discovery of GW Bodies. 2013;5–21. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-5107-5_2
23. Moser JJ, Fritzler MJ. Relationship of other cytoplasmic ribonucleoprotein bodies (cRNPB) to GW/P bodies. *Advances in experimental medicine and biology.* 2013;768:213–42. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-5107-5_13
24. Nakamura M. Clinical significance of autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Seminars in liver disease*. 2014;34(3):334–40. URL: http://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/s-0034-1383732
25. Nozawa K, Fritzler MJ, Chan EKL. Unique and shared features of Golgi complex autoantigens. *Autoimmunity reviews.* 2005;4(1):35–41. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2004.06.002
26. Nozawa K, Fritzler MJ, von Mühlen CA, Chan EKL, Chan EK. Giantin is the major Golgi autoantigen in human anti-Golgi complex sera. *Arthritis research & therapy.* 2003;6(2):1–8. URL: https://link.springer.com/articles/10.1186/ar1035
27. Keppeke GD, Nunes E, Ferraz MLG, Silva EAB, Granato C, Chan EKL, et al. Longitudinal Study of a Human Drug-Induced Model of Autoantibody to Cytoplasmic Rods/Rings following HCV Therapy with Ribavirin and Interferon-α. *PLoS One.* 2012;7(9):e45392. URL: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0045392

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

28. Stinton L. M., Myers R.P., Coffin C.S., Fritzler M.J. Clinical associations and potential novel antigenic targets of autoantibodies directed against rods and rings in chronic hepatitis C infection. *BMC Gastroenterology.* 2013. Т. 13, № 1. P. 1–8. URL: https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-13-50
29. Calise J.S., Keppeke G.D., Andrade L.E.C., Chan E.K.L. Anti-rods/rings: A human model of drug-induced autoantibody generation. *Frontiers in Immunology.* 2015. Т. 6. 41 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00041
30. Keppeke G.D., Satoh M., Ferraz M.L.G., Chan E.K.L., Andrade L.E.C. Temporal evolution of human autoantibody response to cytoplasmic rods and rings structure during anti-HCV therapy with ribavirin and interferon-α. *Immunologic Research*. 2014. Т. 60, № 1. P. 38–49. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s12026-014-8515-2
31. Rattner J., Martin L., Baltimore D.W. Autoantibodies to the centrosome (centriole) react with determinants present in the glycolytic enzyme enolase. *The Journal of Immunology*. 2023. URL: https://journals.aai.org/jimmunol/article-abstract/146/7/2341/24279
32. Mack G.J., Rees J., Sandblom O., Balczon R., Fritzler M.J., Rattner J.B. Autoantibodies to a group of centrosomal proteins in human autoimmune sera reactive with the centrosome. *Arthritis & Rheumatism.* 1998. Т. 41, № 3. P. 551–558. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131
33. Whitehead C.M., Winkfein R.J., Fritzler M.J., Rattner J.B. The spindle kinesin-like protein HsEg5 is an autoantigen in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism.* 1996. Т. 39, № 10. P. 1635–1642. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.1780391005
34. Zeng C., He D., Brinkley B.R. Localization of NuMA protein isoforms in the nuclear matrix of mammalian cells. *Cell Motility and the Cytoskeleton.* 1994. Т. 29, № 2. P. 167–176. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cm.970290208
35. Wiik A.S., Høier-Madsen M., Forslid J., Charles P., Meyrowitsch J. Antinuclear antibodies: A contemporary nomenclature using HEp-2 cells. *Journal of Autoimmunity.* 2010. Т. 35, № 3. P. 276–290. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jaut.2010.06.019
36. Hu C.K., Coughlin M., Mitchison T.J. Midbody assembly and its regulation during cytokinesis. *Molecular Biology of the Cell.* 2012. Т. 23, № 6. P. 1024–1034. URL: https://www.molbiolcell.org/doi/10.1091/mbc.e11-08-0721
37. Vermeersch P., Bossuyt X. Prevalence and clinical significance of rare antinuclear antibody patterns. *Autoimmunity Reviews*. 2013. Т. 12, № 10. P. 998–1003. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.03.014
38. Gitlits V.M., Macaulay S.L., Toh B.H., Sentry J.W. Novel human autoantibodies to phosphoepitopes on mitotic chromosomal autoantigens (MCAs). *Journal of Investigative Medicine*. 2000. Т. 48, № 3. P. 172–182. URL: https://europepmc.org/article/med/10822897

28. Stinton LM, Myers RP, Coffin CS, Fritzler MJ. Clinical associations and potential novel antigenic targets of autoantibodies directed against rods and rings in chronic hepatitis C infection. *BMC Gastroenterol*. 2013;13(1):1–8. URL: https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-13-50
29. John Calise S, Keppeke GD, Andrade LEC, Chan EKL. Anti-rods/rings: A human model of drug-induced autoantibody generation. *Frontiers in immunology.* 2015;6:41. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00041
30. Keppeke GD, Satoh M, Ferraz MLG, Chan EKL, Andrade LEC. Temporal evolution of human autoantibody response to cytoplasmic rods and rings structure during anti-HCV therapy with ribavirin and interferon-α. *Immunologic research.* 2014;60(1):38–49. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s12026-014-8515-2
31. Rattner J, Martin L, Baltimore DW. Autoantibodies to the centrosome (centriole) react with determinants present in the glycolytic enzyme enolase. *The Journal of Immunology*. 2023. URL: https://journals.aai.org/jimmunol/article-abstract/146/7/2341/24279
32. Mack GJ, Rees J, Sandblom O, Balczon R, Fritzler MJ, Rattner JB. Autoantibodies to a group of centrosomal proteins in human autoimmune sera reactive with the centrosome. *Arthritis & Rheumatism*. 1998;41(3):551–8. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131
33. Whitehead CM, Winkfein RJ, Fritzler MJ, Rattner JB. The spindle kinesin-like protein HsEg5 is an autoantigen in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 1996;39(10):1635–42. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.1780391005
34. Zeng C, He D, Brinkley BR. Localization of NuMA protein isoforms in the nuclear matrix of mammalian cells. *Cell motility and the cytoskeleton.* 1994;29(2):167–76. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cm.970290208
35. Wiik AS, Høier-Madsen M, Forslid J, Charles P, Meyrowitsch J. Antinuclear antibodies: A contemporary nomenclature using HEp-2 cells. *Journal of autoimmunity.* 2010;35(3):276–90. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jaut.2010.06.019
36. Hu CK, Coughlin M, Mitchison TJ. Midbody assembly and its regulation during cytokinesis. *Molecular biology of the cell.* 2012;23(6):1024–34. URL: https://www.molbiolcell.org/doi/10.1091/mbc.e11-08-0721
37. Vermeersch P, Bossuyt X. Prevalence and clinical significance of rare antinuclear antibody patterns. *Autoimmunity reviews.* 2013;12(10):998–1003. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.03.014
38. Gitlits VM, Macaulay SL, Toh BH, Sentry JW. Novel human autoantibodies to phosphoepitopes on mitotic chromosomal autoantigens (MCAs). *Journal of investigative medicine.* 2000;48(3):172–82. URL: https://europepmc.org/article/med/10822897

Перспективи подальших досліджень / Prospects for further research

Потребує вдосконалення якості оцінки РНІФ на HEp-2 клітинах, навчання та розробка алгоритмів для лікарів-лаборантів з метою стандартизації та більшого контролю зчитування результатів. Визначити відношення правдоподібності результатів HEp-2 скринінгу у розрізі титрів та типів світіння для різних АНА-асоційованих ревматичних захворювань, а також необхідно створити та впровадити референтні інтервали для HEp-2 скринінгу.

It requires improvement of the quality of IIFT assessment on HEp-2 cells, training and development of algorithms for laboratory doctors with the aim of standardization and greater control of reading results. To determine the likelihood ratio of HEp-2 screening results in terms of titers and glow types for different ANA-associated rheumatic diseases, and it is necessary to create and implement reference intervals for HEp-2 screening.

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 hereby 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, or 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

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України «Створення української адаптації номенклатури Міжнародної погоджувальної групи

Funded by the State Budget of Ukraine. This article is part of the planned research work of Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, titled «Creation of the Ukrainian adaptation of the nomenclature of the Interna-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

типів світіння антиядерних антитіл (ICAP)», номер державної реєстрації: 0123U101726, прикладна, термін виконання: 2023–2024 рр., керівник – доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України, кандидат медичних наук, доцент І.Г. Кольцова.

tional Consensus on Antinuclear Antibody Patterns (ICAP)», state registration number: 0123U101726, applied research, project duration: 2023–2024, supervisor – Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology, and Immunology of Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor Iryna Koltsova.

Подяки

Ми висловлюємо подяку учасникам команди зі створення Української адаптації номенклатури ICAP: Альона Боровик (Одеський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, Одеса, Україна), Наталя Поліщук (Інститут серця Міністрерства охорони здоров'я України, Київ, Україна), Мирон Жиравецький (Медична лабораторія «Біокурс», Львів, Україна), Євгенія Філліпова, Євгенія Козова (Обласна клінічна лікарня ім. Мечникова, Дніпро, Україна).

Acknowledgments

We express our gratitude to the team members for creating the Ukrainian adaptation of the ICAP nomenclature: Alona Borovyk (Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Odesa, Ukraine), Natalia Polishchuk (Heart Institute of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine), Myron Zhyravetskyi (Biocourse Medical Laboratory, Lviv, Ukraine), Yevheniia Fillipova, Yevheniia Kozova (Mechnikov Regional Clinical Hospital, Dnipro, Ukraine).

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Тарасов Євген Васильович – старший викладач кафедри загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; пров. Валіховський, буд. 2, м. Одеса, Україна, 65082;
e-mail: yevhen.tarasov@onmedu.edu.ua
моб.: +38 (067) 709-01-38
Внесок автора: *формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка.*

Куртова Маріанна Миколаївна – кандидат медичних наук, доцентка кафедри загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; пров. Валіховський, буд. 2, м. Одеса, Україна, 65082;
e-mail: marianna.kurtova@onmedu.edu.ua
моб.: +38 (067) 556-99-25
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, написання тексту статті, формулювання висновків.*

Кольцова Ірина Геннадіївна – кандидат медичних наук, доцентка кафедри загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; пров. Валіховський, буд. 2, м. Одеса, Україна, 65082;
e-mail: iryna.koltsova@onmedu.edu.ua
моб.: + 38 (067) 485-13-65
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, аналіз отриманих даних, остаточне затвердження статті.*

Шевчук Ганна Юріївна – кандидат біологічних наук, доцентка кафедри загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України, пров. Валіховський, буд. 2, Одеса, Україна, 65082;
e-mail: anna.shevchuk@onmedu.edu.ua
моб.: +38 (096) 240-11-80
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, аналіз отриманих даних, остаточне затвердження статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Tarasov Yevhen Vasylovych – Senior Lecturer of Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine Department of General and Clinical Epidemiology and Biosafety with a Course in Microbiology and Virology; 2 Valikhovskiy Iane, Odesa, Ukraine, 65082;
e-mail: yevhen.tarasov@onmedu.edu.ua
tel.: +38 (067) 709-01-38
Author's contribution: *Formulation of the research objective, conducting experimental studies, analysis of the obtained data, and their statistical processing.*

Kurtova Marianna Mykolayivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of General and Clinical Epidemiology and Biosafety, with a course in Microbiology and Virology Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 2 Valikhovsky Lane, Odesa, Ukraine, 65082;
e-mail: marianna.kurtova@onmedu.edu.ua
tel.: +38 (067) 556-99-25
Author's contribution: *selection of literary sources according to the topic of the work, conducting experimental studies, analysis of the obtained data and their statistical processing, writing the text of the article, formulating conclusions.*

Koltsova Iryna Henadiivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of General and Clinical Epidemiology and Biosafety with a course in Microbiology and Virology Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 2 Valikhovsky Lane, Odesa, Ukraine, 65082;
e-mail: iryna.koltsova@onmedu.edu.ua
tel.: + 38 (067) 485-13-65
Author's contribution: *selection of literary sources on the research topic, analysis of the obtained data, final approval of the article.*

Shevchuk Hanna Yuriivna – Candidate of Biological Sciences, Associated professor Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine Department of General and Clinical Epidemiology and Biosafety with a Course in Microbiology and Virology; 2 Valikhovsky Lane, Odesa, Ukraine, 65082;
e-mail: anna.shevchuk@onmedu.edu.ua
tel.: + 38 (096) 240-11-80
Author's contribution: *Selection of literary sources on the research topic, analysis of the obtained data, final approval of the article.*

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Грузевський Олександр Анатолійович – доктор медичних наук, професор кафедри загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології Одеського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України, пров. Валіховський, буд. 2, м. Одеса, Україна, 65082;
e-mail: oleksandr.hruzevskyi@onmedu.edu.ua
моб.: + 38 (050) 837-60-50
Внесок автора: *підбір літературних джерел за темою роботи, аналіз отриманих даних, остаточне затвердження статті.*

Hruzevskyi Oleksandr Anatoliyovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine Department of General and Clinical Epidemiology and Biosafety with a Course in Microbiology and Virology; 2 Valikhovsky Lane, Odesa, Ukraine, 65082;
e-mail: oleksandr.hruzevskyi@onmedu.edu.ua
tel.: + 38 (050) 837-60-50
Author's contribution: *Selection of literary sources on the research topic, analysis of the obtained data, final approval of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received*	Отримано після рецензування *Received after review*	Прийнято до друку *Accepted for printing*	Опубліковано *Published*
15.05.2024	18.06.2024	02.09.2024	30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 414–439
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):414–439

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10
УДК: 632.938+612.017.1+57.083.1+612.08+615.37

Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології

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

Freund's adjuvant is a classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology

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:

вакцинальні ад'юванти, повний ад'ювант Фрейнда, галун, ад'ювантний артрит, експериментальна імунологія.

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

© Гладких Ф.В., 2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Винахід вакцин по праву вважається одним із тріумфів медичних досліджень та є одним із найяскравіших досягнень охорони здоров'я в історії людства. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, вакцинація рятує п'ять життів щохвилини та врятувала понад 25 млн життів з 2011 по 2020 рік. Ефективність вакцини залежить не лише від компонентів антигену, а й від ад'ювантів, які часто використовуються для більш ефективної стимуляції імунної системи.
Мета роботи – охарактеризувати сучасне уявлення про вакцинальні ад'юванти, зокрема ад'ювант Фрейнда, як основу експериментальної імунології за даними відкритих джерел інформації.
Матеріали та методи. Підбір публікацій виконано за базами даних PubMed, Clinical Key Elsevier, Cochrane Library, eBook Business Collection та ін., у яких висвітлювались відомості про вакцинальні ад'юванти, зокрема ад'ювант Фрейнда. На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: вакцинальні ад'юванти, повний ад'ювант Фрейнда, галун, ад'ювантний артрит, експериментальна імунологія. 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. У 1924 р. G. Ramon показав, що спільне введення нещодавно винайденого ним дифтерійного анатоксину разом з іншими сполуками, такими як тапіока, лецитин, агар, крохмальна олія, сапонін та ін. посилює антитоксинові реакції на дифтерію. У 1942 р. J. Freund розробив потужний ад'ювант у вигляді емульсії типу «вода-у-маслі» на мінеральному маслі, яка містила вбиті теплом мікобактерії (Mycobacterium tuberculosis), що отримав назву повний ад'ювант Фрейнда. Проте ад'ювант Фрейнда з часом позбавили дозволу на використання у вакцинах для людей через його токсичність для людини. Незважаючи на численні дослідження, до 2009 р. у ліцензованих вакцинах у якості ад'ювантів використовувалися саме солі алюмінію. Починаючи з 2010 р. попит на розробку нових ад'ювантів помітно зростає, особливо після кількох пандемій, таких як Ебола, Зіка та COVID-19. Відомо, що ад'юванти посилюють адаптивний імунітет вакцин шляхом активації клітин вродженого імунітету. Основна концепція їх ефекту полягає в тому, що ад'юванти сприяють виробленню сигналів презентації антигену та костимулюючих сигналів шляхом активації антигенпрезентуючої клітини. Модель ад'ювантного артриту, індукованого повним ад'ювантом Фрейнда, було створено для вивчення патогенезу артриту, включаючи ревматоїдний артрит, подагру та остеоартрит, а також для оцінки ефективності деяких протиартритних та протизапальних препаратів.
Висновки. Вакцинальні ад'юванти представлені широким колом хімічних сполук та речовин, які здатні посилювати імунні відповіді шляхом фізичного або хімічного зв'язку з антигенами. Найбільший вплив на становлення сучасного уявлення про вакцинальні антигени та імунологію в цілому у XX ст. мали Gaston Ramon (1886–1963), Alexander Glenny (1882–1965) та Jules Freund (1890–1960).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Повний ад'ювант Фрейнда історично був і залишається одним із найкорисніших інструментів імунологів. Застосування антигенних сумішей з екстрактів біологічних тканин та повного ад'юванта Фрейнда дозволяє відтворити в експерименті низку органоспецифічних аутоімунних захворюваннь у лабораторних тварин (аутоімунні артрит, міокардит, гепатит, тиреоїдит, енцефаломієліт та ін.), що дає можливість проводити доклінічні дослідження ефективності потенційних імуномоделюючих та симптоматичних терапевтичних агентів.

Для цитування:

Гладких Ф.В. Ад'ювант Фрейнда – класика вакцинальних ад'ювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 414–439. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10

Key words:

vaccine adjuvants, complete Freund's adjuvant, alum, adjuvant arthritis, experimental immunology.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine;
82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Hladkykh F.V., 2024*

ABSTRACT

Background. The invention of vaccines is rightfully considered one of the triumphs of medical research and one of the most remarkable achievements in public health in the history of humanity. According to the World Health Organization, vaccination saves 5 lives every minute and has saved over 25 million lives from 2011 to 2020. The effectiveness of a vaccine depends not only on the components of the antigen but also on the adjuvants, which are often used for more effective stimulation of the immune system.

Purpose – to characterize the modern understanding of vaccine adjuvants, particularly Freund's adjuvant, as a foundation of experimental immunology based on open source information.

Materials and Methods. The selection of publications was conducted using databases such as PubMed, Clinical Key Elsevier, Cochrane Library, eBook Business Collection, and others, which provided information on vaccine adjuvants, particularly Freund's adjuvant. In the first stage, a search for literature sources was performed using keywords: vaccine adjuvants, complete Freund's adjuvant, alum, adjuvant arthritis, experimental immunology. In the second stage, the abstracts of the articles were reviewed, and publications that did not meet the research criteria were excluded. In the third stage, the full texts of the selected articles were examined for compliance with the inclusion criteria and relevance of the studies.

Results. In 1924, G. Ramon demonstrated that the co-administration of the diphtheria anatoxin he had recently developed with other compounds such as tapioca, lecithin, agar, starch oil, saponin, and others enhances antitoxin reactions to diphtheria. In 1942, J. Freund developed a potent adjuvant in the form of a water-in-oil emulsion using mineral oil that contained heat-killed mycobacteria (Mycobacterium tuberculosis), which was named complete Freund's adjuvant. However, over time, Freund's adjuvant was banned for use in vaccines for humans due to its toxicity. Despite numerous studies, until 2009, aluminum salts dominated the use of adjuvants in licensed vaccines. Beginning in 2010, the demand for the development of new adjuvants noticeably increased, especially following several pandemics such as Ebola, Zika, and COVID-19. It is known that adjuvants enhance the adaptive immunity of vaccines by activating innate immune cells. The main concept of their effect is that adjuvants promote the production of antigen presentation signals and costimulatory signals by activating antigen-presenting cells. The model of adjuvant arthritis induced by complete Freund's adjuvant was created to study the pathogenesis of arthritis, including rheumatoid arthritis, gout, and osteoarthritis, as well as to evaluate the effectiveness of certain anti-arthritis and anti-inflammatory drugs.

Conclusions. Vaccine adjuvants encompass a wide range of chemical compounds and substances that enhance immune responses through physical or chemical binding with antigens. The most significant influences on the formation of the modern understanding of vaccine antigens and immunology in the 20th century were Gaston Ramon (1886–1963), Alexander Glenny (1882–1965), and Jules Freund (1890–1960). Complete Freund's adjuvant has historically been and remains one of the most useful tools for immunologists. The use of antigenic mixtures from biological tissue extracts along with complete Freund's adjuvant allows for the reproduction of various organ-specific autoimmune diseases in laboratory animals (such as autoimmune arthritis, myocarditis, hepatitis, thyroiditis, encephalomyelitis, etc.), facilitating preclinical studies on the effectiveness of potential immunomodulating and symptomatic therapeutic agents.

For citation:

Hladkykh FV. Freund's adjuvant is a classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):414–439. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 414–439
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):414–439

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Присвячується 100-річчю відкриття ад'ювантів для вакцин
(Gaston Ramon, 1924 р.)
Dedicated to the 100th anniversary of the discovery of adjuvants for vaccines
(Gaston Ramon, 1924)

ВСТУП

Винахід вакцин по праву вважається одним із тріумфів медичних досліджень та є одним із найяскравіших досягнень охорони здоров'я в історії людства [1, 2]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, вакцинація рятує п'ять життів щохвилини та врятувала понад 25 млн життів з 2011 по 2020 рік [3].

З того часу як англійський лікар Edward Jenner (1749–1823 рр.) вперше застосував вакцину проти віспи у 1796 р., використання вакцин стало незамінним для викорінення хвороб. Так, лише у XX ст. близько 375 млн життів забрала епідемія віспи, а вже з 1978 р., після завершення успішної кампанії з вакцинації, жодна людина не померла від цієї хвороби. Сьогодні понад 70 вакцин дозволено використовувати проти близько 30 мікроорганізмів. Такі захворювання, як поліомієліт, кір, епідемічний паротит, краснуха та ін., спричинили мільйони смертей у XX ст., але на сьогоднішній день вакцини зробили їх рідкісними [4].

Імунізація не тільки зупиняє поширення інфекції в дитинстві, але й забезпечує захист від деяких хвороб на все життя [1]. Вакцини є найдешевшим і найпростішим способом захисту від руйнівних епідемій. Суспільство отримує економічні вигоди, запобігаючи госпіталізації та уникаючи тривалої втрати працездатності. Коротко кажучи, вакцини є найбільш економічно ефективним засобом для порятунку життів, збереження міцного здоров'я та підтримки високої якості життя [4].

Однак наукове співтовариство продовжує стикатися з проблемами в розробці ідеальних вакцин проти багатьох інфекційних захворювань, наприклад, чуми, туберкульозу, малярії, вірусу імунодефіциту людини та тяжкого гострого респіраторного синдрому, викликаного коронавірусом 2 (SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), через імунологічні бар'єри, такі як неадекватна імунна відповідь і слабка імунологічна пам'ять проти вакцин [1, 5, 6]. Ефективність вакцини залежить не лише від компонентів антигену, а й від ад'ювантів, які часто використовуються для більш ефективної стимуляції імунної системи [2].

Ад'ювант (від лат. «adjuvare» – допомагати) – це речовина, яка посилює імунні відповіді шляхом фізичного або хімічного зв'язку з антигенами. Зокрема, ад'юванти сприяють посиленню специфічної імунної відповіді проти антигенів, що містяться у вакцині [6]. Загалом ад'юванти можна розділити на дві підгрупи, залежно від їх домінуючого механізму дії, системи доставки (біодистриб'юції) та потреціатори імунітету («імуностимулятори») [7–9].

Історично в основі дизайну ад'ювантів лежить відтінок алхімії через його залежність від складної біології вродженої імунної активації. Однак нове механістичне розуміння вродженого імунітету в поєднанні з новими ад'ювантами та платформами доставки для використання цих знань нещодавно привело до значних успіхів [7].

INTRODUCTION

The invention of vaccines is rightfully considered one of the triumphs of medical research and one of the most significant achievements in healthcare in the history of humanity [1, 2]. According to the World Health Organization, vaccination saves 5 lives every minute and has saved over 25 million lives from 2011 to 2020 [3].

Since English physician Edward Jenner (1749–1823) first used a vaccine against smallpox in 1796, the use of vaccines has become indispensable for eradicating diseases. For instance, in the 20th century, smallpox epidemics claimed about 375 million lives, but since 1978, after the successful vaccination campaign, no one has died from this disease. Today, more than 70 vaccines are approved for use against around 30 microorganisms. Diseases such as polio, measles, mumps, and rubella caused millions of deaths in the 20th century, but vaccines have made them rare today [4].

Immunization not only halts the spread of infection in childhood but also provides lifelong protection against certain diseases [1]. Vaccines are the cheapest and simplest way to protect against devastating epidemics. Society gains economic benefits by preventing hospitalizations and avoiding prolonged loss of productivity. In short, vaccines are the most cost-effective means of saving lives, maintaining robust health, and supporting a high quality of life [4].

However, the scientific community continues to face challenges in developing ideal vaccines against many infectious diseases, such as plague, tuberculosis, malaria, human immunodeficiency virus, and severe acute respiratory syndrome caused by coronavirus 2 (SARS-CoV-2), due to immunological barriers like inadequate immune response and weak immunological memory against vaccines [1, 5, 6]. The effectiveness of a vaccine depends not only on the components of the antigen but also on the adjuvants often used to more effectively stimulate the immune system [2].

Adjuvant (from Latin «adjuvare» – to help) is a substance that enhances immune responses through physical or chemical binding with antigens. Specifically, adjuvants promote the strengthening of the specific immune response against the antigens contained in the vaccine [7]. In general, adjuvants can be divided into two subgroups based on their dominant mechanism of action: delivery systems (biodistribution) and immune potentiators («immunostimulants») [7–9].

Historically, the design of adjuvants was influenced by a touch of alchemy due to its reliance on the complex biology of innate immune activation. However, new mechanistic understanding of innate immunity, combined with new adjuvants and delivery platforms to utilize this knowledge, has recently led to significant advancements [7].

While vaccines were initially made from live attenuated microorganisms, modern biotechnology, through genetic engineering, has facilitated the development

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Хоча вакцини спочатку виготовлялися з живих ослаблених мікроорганізмів, сучасна біотехнологія, завдяки використанню генної інженерії, сприяла розробці вакцин, що містять високоочищені рекомбінантні антигени, які поступово замінюють самоад'ювантні живі ослаблені та убиті вакцини. Цей підхід успішно знизив показники реактогенності, порівняно з живими ослабленими або вбитими вакцинами. Проте вакцини на основі рекомбінантного антигену часто є недостатньо імуногенними, особливо в популяціях із слабким імунітетом, таких як діти, літні люди та хронічно хворі, що підкреслює необхідність підходів для посилення захисної відповіді вакцини [10].

На ад'юванти звернули увагу в 1920 р., після того як французький імунолог Gaston Ramon (1886–1963 рр.) з Інституту Пастера зробив важливе спостереження, що запальна реакція в місці ін'єкції, індукована за допомогою різних речовин, посилює імунну відповідь, чим він власне відкрив концепцію ад'ювантів [11]. G. Ramon дослідив на предмет ад'ювантних властивостей цілу низку речовин – мікроби з абсцесу від іншого коня, хлорид кальцію, гліцерин, желатин, агар, нерозчинна сироватка, хлібні крихти, алейрон, картопляний крохмаль, молоко, лецитин, ланолін, холестерин, вазелін, каучуковий латекс, танін, пектин та ін. [12]. Крохмалі, особливо тапіока (крохмаль з коренів маніоки Manihot esculenta), спочатку мали найкращий профіль. З одного боку, вони адсорбували антиген, утворюючи комплекс, яким можна було легко маніпулювати, а з іншого боку, вони викликали легке місцеве подразнення, яке поступово розсмоктувалося, не залишаючи слідів, одночасно поступово вивільняючи антиген [13, 14]. Згодом його замінили іншими ад'ювантами, обраними спочатку емпірично, а потім на основі імунологічних досліджень [15–17].

G. Ramon визначав ад'ювант як «особливо інертну речовину, яка при введенні разом із специфічним антигеном вакцини більшою чи меншою мірою підвищує імунітет, який останній здатний виробити», або, простіше кажучи, «інертну речовину, яка, у поєднанні з антигеном індукує імунну відповідь, що перевершує відповідь антигену, який вводиться окремо» [12].

З розвитком уявлення про ад'юванти стало зрозуміло, що вони походять із широкого кола джерел, включаючи солі алюмінію, мікроорганізми та їх похідні, тваринні ліпіди, синтетичні полімерні матеріали, природні рослинні ефіри, полісахариди тощо [11, 17, 18].

Ад'юванти, які зараз широко використовуються як у людей, так і у тварин, здебільшого були розроблені емпіричним шляхом без чіткого розуміння їх клітинних і молекулярних механізмів дії. Однак останні дані свідчать про те, що більшість, якщо не всі, ад'юванти підсилюють Т- та В-клітинну відповідь шляхом залучення компонентів вродженої імунної системи, а не шляхом прямого впливу на самі лімфоцити [19].

На сьогодні ад'юванти використовуються клінічно для [19]:

1. Посилення відповіді на вакцину в загальній популяції, збільшення титрів антитіл та/або частки суб'єктів, які стають захисно імунізованими.

2. Підвищення рівня сероконверсії в популяціях зі зниженою чутливістю через вік (немовлята, люди похилого віку), захворювання або терапевтичні втручання.

of vaccines containing highly purified recombinant antigens, which are gradually replacing self-adjuvanting live attenuated and killed vaccines. This approach has successfully reduced reactogenicity compared to live attenuated or killed vaccines. However, recombinant antigen-based vaccines often exhibit insufficient immunogenicity, especially in populations with weakened immunity, such as children, the elderly, and those with chronic illnesses, highlighting the need for strategies to enhance the protective response of vaccines [10].

Adjuvants were brought to attention in 1920 when French immunologist Gaston Ramon (1886–1963) from the Pasteur Institute made an important observation that the inflammatory reaction at the injection site, induced by various substances, enhances the immune response, thereby discovering the concept of adjuvants [11]. Ramon investigated a variety of substances for their adjuvant properties, including microbes from the abscess of another horse, calcium chloride, glycerin, gelatin, agar, insoluble serum, bread crumbs, aleurone, potato starch, milk, lecithin, lanolin, cholesterol, vaseline, rubber latex, tannin, pectin, and more [12]. Starches, particularly tapioca (starch from the roots of the cassava plant, Manihot esculenta), initially showed the best profile. They adsorbed the antigen, forming a complex that could be easily manipulated, while also causing mild local irritation that gradually resolved without leaving traces, simultaneously releasing the antigen slowly [13, 14]. Over time, they were replaced by other adjuvants, initially chosen empirically and later based on immunological studies [15–17].

Ramon defined an adjuvant as «a particularly inert substance that, when administered together with a specific vaccine antigen, increases the immunity that the latter is capable of producing to a greater or lesser extent», or, more simply, «an inert substance that, in combination with an antigen, induces an immune response that surpasses the response to the antigen given alone» [12].

As the understanding of adjuvants developed, it became clear that they originate from a wide range of sources, including aluminum salts, microorganisms and their derivatives, animal lipids, synthetic polymeric materials, natural plant esters, polysaccharides, and more [11, 17, 18].

Adjuvants currently widely used in both humans and animals were mostly developed empirically without a clear understanding of their cellular and molecular mechanisms of action. However, recent data suggest that most, if not all, adjuvants enhance T- and B-cell responses by engaging components of the innate immune system rather than by directly affecting the lymphocytes themselves [19].

Currently, adjuvants are clinically used for [10]:

1. Enhancing vaccine response in the general population, increasing antibody titers and/or the proportion of subjects achieving protective immunity.

2. Increasing seroconversion rates in populations with reduced sensitivity due to age (infants, elderly), diseases, or therapeutic interventions.

3. Utilizing smaller doses of antigens, as adjuvants can elicit immune responses with significantly lower amounts of antigen, which is crucial in situations where mass vaccination is urgent and production capacities

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

3. Використання менших доз антигену, оскільки здатність ад'юванта отримувати імунні відповіді зі значно меншими кількостями антигену може мати важливе значення в умовах, коли широкомасштабна вакцинація є терміновою, а виробничі потужності обмежені, наприклад, у разі появи пандемічного штаму грипу.

4. Імунізація меншою кількістю доз вакцини, необхідних для досягнення захисту.

Мета роботи – охарактеризувати сучасне уявлення про вакцинальні ад'юванти, зокрема ад'ювант Фрейнда, як основу експериментальної імунології за даними відкритих джерел інформації.

3. Immunizing with fewer doses of vaccine required to achieve protection.

Objective – to characterize the current understanding of vaccine adjuvants, particularly Freund's adjuvant, as the basis of experimental immunology based on data from open sources.

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 відомості про вакцинальні ад'юванти, зокрема ад'ювант Фрейнда, як основу експериментальної імунології. На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: вакцинальні ад'юванти, повний ад'ювант Фрейнда, галун, ад'ювантний артрит, експериментальна імунологія. 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.

Критеріями включення публікацій до вибірки, яка підлягала контент-аналізу, були такі:

1) висвітлення сучасних відомостей щодо вакцинальних ад'ювантів, зокрема ад'юванту Фрейнда, як основу експериментальної імунології;

2) відповідність досліджень ключовим засадам доказової медицини;

3) відкритий доступ до повнотекстової статті.

MATERIALS AND METHODS

The selection of publications was conducted using databases such as 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/), which provided information on vaccine adjuvants, particularly Freund's adjuvant, as the basis of experimental immunology.

In the first stage, a search for literature sources was conducted using keywords: vaccine adjuvants, Freund's complete adjuvant, alum, adjuvant arthritis, and experimental immunology. In the second stage, the abstracts of the articles were reviewed, and publications that did not meet the research criteria were excluded. In the third stage, full texts of the selected articles were examined for compliance with inclusion criteria and relevance to the research.

The inclusion criteria for the publications subjected to content analysis were as follows:

1) presentation of current information regarding vaccine adjuvants, particularly Freund's adjuvant, as the basis of experimental immunology;

2) alignment of the research with key principles of evidence-based medicine;

3) open access to the full text of the article.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Віхи становлення вакцинальних ад'ювантів

Використання ад'ювантів у вакцинах має сторічну історію досліджень та значний досвід по впровадженню в клінічну практику. Їх активне вивчення починається **з 1920 р.** [3]. Першими задокументованими дослідженням ад'ювантних ефектів вважають спостереження, проведені *G. Ramon*, який встановив, що вищі титри специфічних антитіл були виявлені у коней, у яких розвинулися абсцеси в місці ін'єкції [12]. Щоб підтвердити цю гіпотезу, він викликав стерильні абсцеси в місці ін'єкції інактивованим токсином [20]. Офіційно відкриття ад'ювантів для вакцин датується 1924 р., коли G. Ramon показав, що спільне введення нещодавно винайденого ним дифтерійного анатоксину разом з іншими сполуками, такими як тапіока, лецитин, агар, крохмальна олія, сапонін або панірувальні сухарі, посилює антитоксинові реакції на дифтерію [17, 18].

У 1926 р. *Glenny A.T.* та співавт. [21] виявили, що дифтерійний анатоксин, осаджений алюмінієм, за-

RESULTS AND DISCUSSION

Milestones in the development of vaccine adjuvants

The use of adjuvants in vaccines has a century-long history of research and significant experience in clinical practice. Their active study began **in 1920** [3]. The first documented research on adjuvant effects is attributed to *G. Ramon*, who established that higher titers of specific antibodies were observed in horses that developed abscesses at the injection site [12]. To confirm this hypothesis, he induced sterile abscesses at the injection site using inactivated toxin [20]. The official discovery of adjuvants for vaccines dates back to 1924, when G. Ramon demonstrated that the co-administration of the diphtheria anatoxin he had recently discovered, along with other compounds such as tapioca, lecithin, agar, starch oil, saponin, or breadcrumbs, enhanced the antitoxic response to diphtheria [17, 18].

In 1926, *A.T. Glenny* and colleagues [21] found that aluminum-precipitated diphtheria anatoxin provided better immunogenicity than the anatoxin alone.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

безпечує кращу імуногенність, ніж анатоксин окремо. Це новаторське дослідження спонукало використовувати алюміній у вакцинах як допоміжний засіб, і ця практика триває вже понад вісім десятиліть [6]. Солі алюмінію, особливо галун ($KAl(SO_4)_2 \times 12H_2O$; *син.* сульфат алюмінію калію, алюмокалієвий галун), показали великі перспективи [22]. Їх ефективність пояснюється здатністю адсорбувати та поступово вивільняти антигени [23]. Солі алюмінію використовувалися у вакцинах проти дифтерії та правця, ліцензованих Управлінням з контролю за продуктами й ліками США (FDA) з 1930 р. [24]. На даний час серед вакцин для людини, схвалених FDA, є 25 алюмінієвмісних вакцин [25].

У **1942 р.** *J. Freund* розробив потужний ад'ювант у вигляді емульсії типу «вода-у-маслі» на мінеральному маслі, яка містила вбиті нагріванням мікобактерії туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis*), що отримав назву **повний ад'ювант Фрейнда** [3, 26, 27]. Проте ад'ювант Фрейнда з часом позбавили дозволу на використання у вакцинах для людей через його токсичність для людини [27].

Watad A. та співавт. (2020 р.) [28] опублікували опис клінічного випадку поліаутоімунітету після випадкової ін'єкції дослідникові віком 34 роки повного ад'юванту Фрейнда. Через кілька тижнів у нього з'явились болі в грудній клітці, озноб та лихоманка. Було діагностовано ад'ювантну хворобу з симптомокомплексом: артирит, запалення сім'яника та серозит. Впродовж кількох років у нього відбувся тромбоз легеневої артерії, з'явилась сухість очей, розвинулись антифофоліпідний синдром та синдром Шегрена, які супроводжувались апатією, порушеннями сну, депресіями та втратою свідомості. Такий стан тривав 10 місяців, після чого розвинулась хронічна серцева недостатність після кількох інфарктів [28].

Подібно до ад'юванту Фрейнда, використання описаних у **1956 р.** ад'ювантів бактеріальних ліпополісахаридів (LPS) у вакцинах для людини теж було обмежено через їх місцеві та системні побічні ефекти [16].

У зв'язку з тривалою відсутністю «золотого стандарту» ад'ювантів багато вакцин було розроблено з використанням живих ослаблених вірусів (наприклад, вакцини проти вітряної віспи), однак вони несуть ризик для людей з ослабленим імунітетом. Крім того, у багатьох вакцинах використовувався інактивований збудник без допоміжних речовин (наприклад, вакцини проти сезонного грипу та поліомієліту), які не завжди здатні досягти належного ефекту. В світлі появи рекомбінантних білкових антигенів у 1980 р., які є менш імуногенними, важливість розробки ад'ювантів стала більш очевидною [24].

Після тривалого застою у розробці ад'ювантів, у **1997 р.** емульсія типу «масло-у-воді» MF59 була ліцензована в Європі як ад'ювант для вакцин проти грипу. У наступні 20 років чотири інші ад'ювanti (AS04, AS03, AS01 та CpG ODN 1018) отримали ліцензію на використання у вакцинах, що змінило одноманітність ад'ювантів для людських вакцин [16].

Незважаючи на численні дослідження, до **2009 р.** у ліцензованих вакцинах в якості ад'ювантів використовувались переважно солі алюмінію [24]. Починаючи з 2010 р. попит на розробку нових ад'ювантів помітно зростає, особливо після кількох пандемій, таких як Ебола, Зіка та COVID-19 (табл. 1).

This pioneering research prompted the use of aluminum in vaccines as an adjuvant, a practice that has continued for over eight decades [6]. Aluminum salts, particularly alum ($KAl(SO_4)_2 \times 12H_2O$; also known as potassium aluminum sulfate or potash alum), have shown great promise [22]. Their effectiveness is attributed to their ability to adsorb and gradually release antigens [23]. Aluminum salts have been used in vaccines against diphtheria and tetanus that have been licensed by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) since 1930 [24]. Currently, there are 25 aluminum-containing vaccines approved by the FDA for human use [25].

In 1942, *J. Freund* developed a powerful adjuvant n the form of a water-in-oil emulsion in mineral oil, con-taining killed heat-inactivated *Mycobacterium tuberculosis*, known as **Freund's complete adjuvant** [3, 26, 27]. However, over time, Freund's adjuvant was banned for use in human vaccines due to its toxicity to humans [27].

Watad A. et al. (2020) [28] published a case report of polyautoimmunity following an accidental injection of Freund's complete adjuvant into a 34-year-old researcher. A few weeks later, he developed chest pain, chills, and fever. He was diagnosed with adjuvant disease characterized by a syndrome including arthritis, inflammation of the epididymis, and serositis. Over the following years, he experienced thrombosis of the pulmonary artery, dry eyes, developed antiphospholipid syndrome and Sjögren's syndrome, accompanied by apathy, sleep disturbances, depression, and loss of consciousness. This condition persisted for 10 months, after which he developed chronic heart failure following several heart attacks [28].

Similar to Freund's adjuvant, the use of bacterial lipopolysaccharide (LPS) adjuvants described **in 1956** in human vaccines was also limited due to their local and systemic side effects [16].

Due to the prolonged absence of a «gold standard» for adjuvants, many vaccines were developed using live attenuated viruses (e.g., vaccines against chickenpox), which pose risks to individuals with weakened immune systems. Additionally, many vaccines used inactivated pathogens without adjuvants (e.g., vaccines against seasonal influenza and poliomyelitis), which do not always achieve the desired effect. In light of the emergence of recombinant protein antigens in 1980, which are less immunogenic, the importance of developing adjuvants became more evident [24].

After a long stagnation in adjuvant development, **in 1997**, the oil-in-water emulsion MF59 was licensed in Europe as an adjuvant for influenza vaccines. Over the next 20 years, four other adjuvants (AS04, AS03, AS01, and CpG ODN 1018) were licensed for use in vaccines, changing the uniformity of adjuvants for human vaccines [16].

Despite numerous studies, **by 2009**, the licensed vaccines predominantly used aluminum salts as adjuvants [24]. Starting in 2010, the demand for new adjuvant development noticeably increased, especially following several pandemics such as Ebola, Zika, and COVID-19 (Table 1).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 1. Ад'юванти у вакцинах, ліцензованих FDA, станом на 2024 р. (адаптовано за [24])
Table 1. Adjuvants in FDA-licensed vaccines as of 2024 (adapted from [24])

Ад`ювант Adjuvant	Рік ліцензії Licensure year	Композиція Composition	Вакцини Vaccines
1	2	3	4
Солі алюмінію Aluminum	1930	Один або декілька з наступного: 1) гідроксид алюмінію, 2) фосфат алюмінію, 3) сульфат алюмінію калію (галун), 4) аморфний сульфат гідроксифосфату алюмінію One or more of the following: 1) aluminum hydroxide, 2) aluminum phosphate, 3) aluminum potassium sulfate (alum), 4) amorphous aluminum hydroxyphosphate sulfate (AAHS)	Сибірська виразка, DT, DTaP (Daptacel, Infanrix), DTaP-HepB-IPV (Pediarix), DTaP-IPV (Kinrix, Quadracel), DTaP-IPV/Hib (Pentacel), DTaP-IPV-Hib-HepB (VAXELIS), HepA (Havrix, Vaqta), HepB (Engerix-B, PREHEVBRIO, Recombivax), HepA/HepB (Twinrix), HIB (PedvaxHIB), HPV (Gardasil 9), японський енцефаліт (Ixiaro), MenB (Bexsero, Trumenba), пневмококовий (Prevnar 13, Prevnar 20, VAXNEUVANCE), Td (Tenivac, Mass Biologics), Tdap (Adacel, Boostrix), кліщовий енцефаліт (TICOVAC) Anthrax, DT, DTaP (Daptacel, Infanrix), DTaP-HepB-IPV (Pediarix), DTaP-IPV (Kinrix, Quadracel), DTaP –IPV/Hib (Pentacel), DTaP-IPV-Hib-HepB (VAXELIS), HepA (Havrix, Vaqta), HepB (Engerix-B, PREHEVBRIO, Recombivax), HepA/HepB (Twinrix), HIB (PedvaxHIB), HPV (Gardasil 9), Japanese encephalitis (Ixiaro), MenB (Bexsero, Trumenba), Pneumococcal (Prevnar 13, Prevnar 20, VAXNEUVANCE), Td (Tenivac, Mass Biologics), Tdap (Adacel, Boostrix), Tick-Borne Encephalitis (TICOVAC)
AS04	2009	Монофосфориліпід А (MPL), абсорбований гідроксидом алюмінію Monophosphoryl lipid A (MPL) absorbed on aluminum hydroxide	Вакцина проти вірусу папіломи людини (Церварикс) HPV Vaccine (Cervarix)
AS03	2013	Емульсія «масло-у-воді» (d,l)-α-токоферолу, сквалену та твіну 80 Oil in water emulsion of (d,l)-α-tocopherol, squalene, and tween 80	Вакцина H1N1 H1N1 Vaccine
MF59	2015	Емульсія «масло-у-воді» сквалену, span 85 і tween 80 Oil in water emulsion of squalene, span 85, and tween 80	Вакцина проти сезонного грипу (Fluad та Fluad Quadrivalent) Seasonal influenza vaccine (Fluad та Fluad Quadrivalent)
Везикула зовнішньої мембрани (OMV) Outer Membrane Vesicle (OMV)	2015	Везикула зовнішньої мембрани, отримана з N. Meningitidis Outer membrane vesicle derived from N. Meningitidis	Вакцина проти менінгококу групи В (Bexsero) Group B meningococcus (Bexsero)
AS01	2017	Ліпосомальна композиція QS-21 та MPL Liposomal formulation of QS-21 and MPL	Вакцина проти оперізувального лишаю (Shingrix) Zoster vaccine (Shingrix)
CpG 1018	2017	22-мірна олігонуклеотидна послідовність, що містить мотиви CpG 22-mer oligonucleotide sequence containing CpG motifs	HepB (Heplisav-B) HepB (Heplisav-B)
rVSV	2019	Живий ослаблений рекомбінантний вектор вірусу везикулярного стоматиту (rVSV) Live attenuated recombinant vesicular stomatitis virus (rVSV) vector	Вакцина проти лихоманки Ебола (Ervebo) Ebola Vaccine (Ervebo)
Ліпідні наночастинки BioNTech BioNTech Lipid Nanoparticle	2021	N-дитетрадецилацетамід, 1,2-дистеароїл-sn-гліцеро-3-фосфохолін [DSPC] і холестерин N-ditetradecylacetamide, 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine [DSPC], and cholesterol	Вакцина проти COVID-19 (Comirnaty) COVID-19 Vaccine (Comirnaty)

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Продовження таблиці 1
Continuation of the table 1

1	2	3	4
Ліпідна наночастинка Moderna Moderna Lipid Nanoparticle	2022	SM-102, поліетиленгліколь, 2000 димиристоїл гліцерин [DMG], 1,2-дистеароїл-sn-гліцеро-3-фосфохолін [DSPC] і холестерин SM-102, polyethylene glycol [PEG], 2000 dimyristoyl glycerol [DMG], 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine [DSPC], and cholesterol	Вакцина проти COVID-19 (Spikevax) COVID-19 Vaccine (Spikevax)
MatrixM (EUA)	2022	Композиція наночастинок із фракцій сапоніну, що призводить до матриці-А та матриці С, що постачаються разом як матриця-М Nanoparticle formulation of saponin fractions resulting in Matrix-A and Matrix C delivered together as Matrix-M	Вакцина проти COVID-19 (Novavax) COVID-19 Vaccine (Novavax)
CpG 7909	2023	24-мірна олігонуклеотидна послідовність, що містить мотиви CpG 24-mer oligonucleotide sequence containing CpG motifs	Вакцина проти сибірської виразки (Cyfendus) Anthrax Vaccine (Cyfendus)

Загалом номенклатура ад'ювантів розвивалася повільно, оскільки вперше ад'ювант був використаний у ліцензованій вакцині у 1930-х роках (солі алюмінію) та залишався єдиним ад'ювантом у ліцензованих вакцинах протягом наступних 80 років [24].

Пандемія COVID-19 підкреслила важливість доступу до ефективних вакцин, щоб протистояти потенційній загрозі нової пандемії. Насправді, ліцензовані РНК-вакцини проти COVID-19 мають властивості ад'ювантів, і пов'язані з ліпосомальними компонентами, які використовуються як носії кодифікуючої РНК. Однак найновіша ліцензована вакцина проти COVID-19 заснована на класичній платформі, що містить білок, і доповнена ад'ювантом під назвою Matrix-M, який містить фракцію-А та фракцію-С екстракту *Quillaja saponaria Molina* [2, 29].

Сучасні уявлення про механізми дії вакцинальних ад'ювантів та підходи до їх класифікації

Ад'юванти традиційно використовувалися для збільшення величини адаптивної відповіді на вакцину на основі титру антитіл або здатності запобігати інфекції, але друга роль ад'ювантів стає все більш важливою: керувати типом адаптивної відповіді для отримання найбільш ефективних форм імунітету для кожного конкретного збудника [19]. Таким чином, є дві різні причини для включення ад'юванта у вакцину. Щодо вакцин, які зараз розробляються, ад'ювanти все частіше використовуються для потенціації типів імунітету, які не генеруються ефективно антигенами без ад'ювантів. Наприклад, ад'ювanти використовувалися в до клінічних і клінічних дослідженнях для [19]:

1) забезпечення функціонально відповідних типів імунної відповіді (наприклад, клітина Th1 проти Th2, CD8+ проти CD4+ Т-клітин, специфічні зотопи антитіл);

2) посилення генерації пам'яті, особливо пам'яті Т-клітин;

3) збільшення швидкості початкової реакції, що може бути критичним у разі спалаху пандемії інфекції;

Overall, the nomenclature of adjuvants has developed slowly, as the first adjuvant was used in a licensed vaccine in the 1930s (aluminum salts) and remained the only adjuvant in licensed vaccines for the next 80 years [24].

The COVID-19 pandemic highlighted the importance of access to effective vaccines to combat the potential threat of a new pandemic. In fact, licensed mRNA vaccines against COVID-19 possess adjuvant properties related to the liposomal components used as carriers for the encoding RNA. However, the latest licensed COVID-19 vaccine is based on a classical platform containing a protein and is complemented by an adjuvant called Matrix-M, which contains fraction A and fraction C from the extract of *Quillaja saponaria Molina* [2, 29].

Modern concepts of mechanisms of action of vaccine adjuvants and approaches to their classification

Adjuvants have traditionally been used to increase the magnitude of the adaptive response to a vaccine based on antibody titers or the ability to prevent infection. However, the second role of adjuvants is becoming increasingly important: to steer the type of adaptive response to elicit the most effective forms of immunity for each specific pathogen. Thus, there are two distinct reasons for including an adjuvant in a vaccine. Regarding vaccines currently in development, adjuvants are increasingly being used to enhance types of immunity that are not effectively generated by antigens alone. For example, adjuvants have been used in preclinical and clinical studies for:

1) ensuring functionally relevant types of immune responses (e.g., Th1 versus Th2, CD8+ versus CD4+ T cells, specific isotypes of antibodies);

2) enhancing memory generation, especially T cell memory;

3) increasing the speed of the initial response, which can be critical in the event of an infectious pandemic outbreak;

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

4) зміни широти, специфічності або спорідненості відповіді.

На сьогодні існує багато потенційних ад'ювантів, хоча дуже мало з них використовується в медицині, а також наявні різні класифікації, засновані на їх походженні (рослинні, бактеріальні, хімічні або гормональні), молекулярній структурі, цільовій «мішені», способу дії, використання тощо [17, 30–33].

Як загадувалось раніше, за механізмом дії вакцинальні ад'юванти класифікують як системи доставки та імуностимулятори [16]. Ці способи дії потенційно доповнюють один одного і все частіше поєднуються в ад'ювантних формах різної складності [17] (рис. 1).

4) modifying the breadth, specificity, or affinity of the response.

Currently, there are many potential adjuvants, although very few are used in medicine. Various classifications exist based on their origin (plant, bacterial, chemical, or hormonal), molecular structure, target «site», mechanism of action, usage, and more [17, 30–33].

As mentioned earlier, vaccine adjuvants are classified by their mechanism of action as delivery systems and immunostimulants [16]. These modes of action potentially complement each other and are increasingly combined in adjuvant formulations of varying complexity [17] (Fig.1).

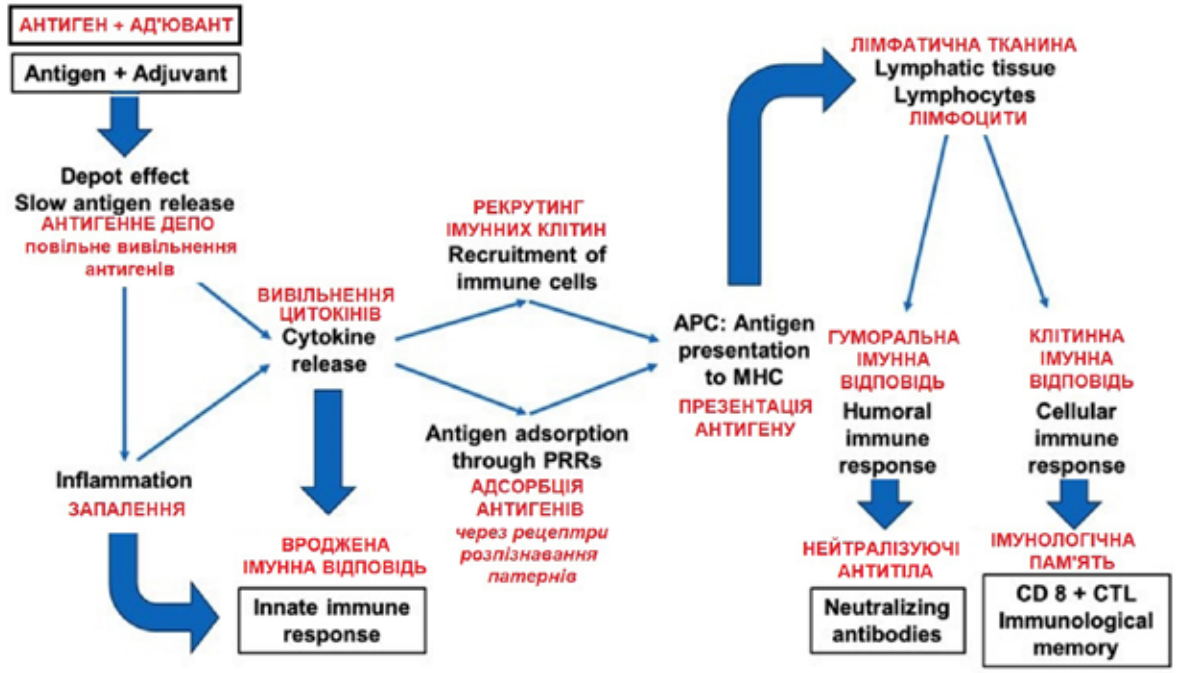


Рис. 1. Вплив ад'ювантів на імунну відповідь (адаптовано за [17])
Fig. 1. Effect of adjuvants on the immune response (adapted from [17])

Як відомо, ад'юванти посилюють адаптивний імунітет вакцин шляхом активації клітин вродженого імунітету. Основна концепція ефекту ад'ювантів полягає в тому, що вони сприяють виробленню сигналів презентації антигену (*сигнал 1*) та костимулюючих сигналів (*сигнал 2*) шляхом активації антигенпрезентуючих клітин (АПК). Крім того, активація рецпторів розпізнавання патерну (PRR – *pattern recognition receptor*), у тому числі Toll-споріднених рецепторів (TLR – *Toll-like receptors*) призводить до посилення експресії цитокінів і костимулюючих молекул, що викликає посилення костимулюючої передачі сигналів (*сигнал 2*) (рис. 2) [16].

Сигнали презентації антигену – це пептиди антигену – основні комплекси гістосумісності (MHC – *major histocompatibility complex*), які представлені на поверхні АПК після захоплення та обробки антигенів. Костимулюючі сигнали включають костимулюючі молекули (наприклад, CD40, CD80, CD86), що експресуються на поверхні АПК, і секретовані запальні цитокіни (наприклад, інтерлейкіни (IL)-6, IL-10, IL-12 та фактор некрозу пухлин α (TNF-α – *tumor necrosis factor* α)). Вироблення цих двох сигналів може сильно

As is known, adjuvants enhance the adaptive immune response of vaccines by activating innate immune cells. The main concept of the adjuvant effect is that they promote the production of antigen presentation signals (*Signal 1*) and costimulatory signals (*Signal 2*) by activating antigen-presenting cells (APCs). Additionally, the activation of pattern recognition receptors (PRRs), including Toll-like receptors (TLRs), leads to increased expression of cytokines and costimulatory molecules, resulting in enhanced costimulatory signaling (*Signal 2*) (Fig. 2) [16].

Antigen presentation signals consist of antigen peptides and major histocompatibility complex (MHC) molecules that are presented on the surface of APCs after capturing and processing antigens. Costimulatory signals include costimulatory molecules (e.g., CD40, CD80, CD86) expressed on the surface of APCs and secreted inflammatory cytokines (e.g., interleukins (IL)-6, IL-10, IL-12, and tumor necrosis factor α (TNF-α)). The production of these two signals can strongly induce the activation of naïve T cells, leading to an enhanced adaptive immune response [16, 34].

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

індукувати активацію наївних Т-клітин, що призводить до посилення адаптивної імунної відповіді [16, 34].

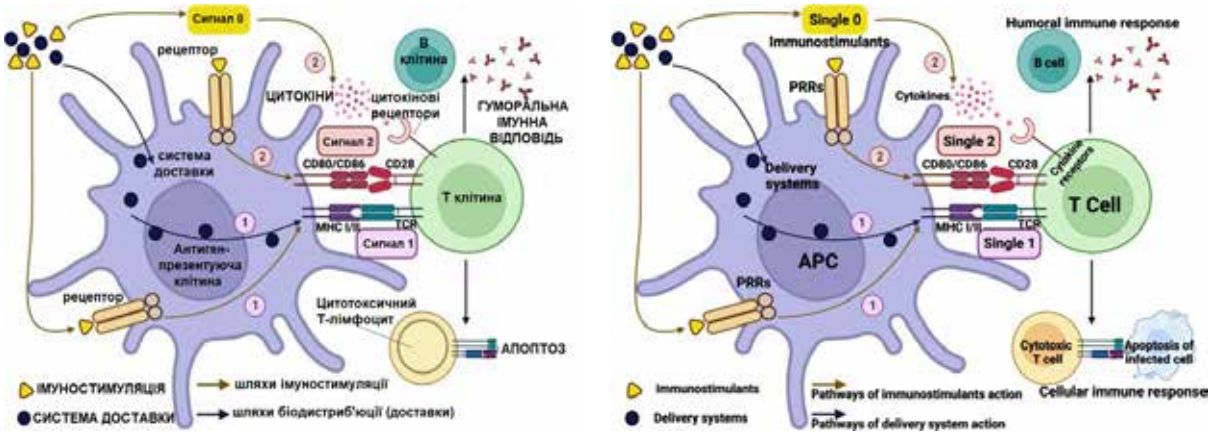


Рис. 2. Основні механізми дії ад'ювантів (адаптовано за [16])
Fig. 2. Main mechanisms of action of adjuvants (adapted from [16])

Імуностимулятори, такі як молекулярні патерни, пов'язані з патогенами, молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням, і хімічно синтезовані маломолекулярні агоністи TLR, можуть призвести до вироблення сигналу 1 і сигналу 2 АПК. Системи доставки відіграють певну роль, сприяючи представленню антигенів на молекулах МНС (сигнал 1). Примітно, що деякі дослідження показали, що багато систем доставки можуть безпосередньо націлюватися на В-клітини, щоб індукувати оптимально ефективну відповідь антитіл [16].

Слід зазначити, що в ад'ювантах системи доставки антигени пов'язані з ад'ювантом, який працює, зокрема, як носій антигену. Крім того, вони здатні індукувати місцеву прозапальну відповідь шляхом активації вродженої імунної системи, що призводить до залучення імунних клітин до місця ін'єкції [2, 35].

Facciola A. та співавт. [2] у 2023 р. запропонували поділ вакцинальних ад'ювантів на чотири групи – системи доставки, потенціатори імунітету, комбіновані ад'юванти та мукозальні ад'юванти (табл. 2).

Солі алюмінію є ад'ювантнами, які використовувалися протягом найдовшого періоду часу та найчастіше включалися у вакцини, причому приблизно одна третина наразі ліцензованих вакцин містить солі алюмінію [36]. Як наслідок, солі алюмінію є найбільш перевіреними з точки зору безпеки серед вакцинних ад'ювантів [2]. Зв'язування солі алюмінію та антигену посилює поглинання антигену та його презентацію АПК [37]. Крім того, солі алюмінію стимулюють активацію інфламмасоми NLRP3 (*NOD-like receptor family pyrin domain containing 3; кріопірин*), що призводить до виробництва IL-1β та IL-18 з наступним місцевим запаленням та рекрутуванням АПК [6, 38].

Клінічні та експериментальні дані, отримані до цього часу, визначають принаймні три основні ризики, пов'язані з алюмінієм у вакцинах [39]:

1) він може зберігатися в організмі;

2) це може викликати патологічні імунологічні реакції;

3) він може проходити через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) до центральної нервової ситсеми (ЦНС), де може викликати імунозапальні процеси, що призводять до запалення мозку та тривалої нейронної дисфункції.

Immunostimulants, such as pathogen-associated molecular patterns, damage-associated molecular patterns, and chemically synthesized small-molecule TLR agonists, can lead to the production of Signal 1 and Signal 2 in APCs. Delivery systems play a specific role in facilitating the presentation of antigens on MHC molecules (Signal 1). Notably, some studies have shown that many delivery systems can directly target B cells to induce optimally effective antibody responses [16].

It is important to note that in adjuvants, delivery systems associate antigens with the adjuvant, which acts, in particular, as an antigen carrier. Furthermore, they are capable of inducing a local pro-inflammatory response by activating the innate immune system, resulting in the recruitment of immune cells to the injection site [2, 35].

Facciola A. et al. (2023) proposed classifying vaccine adjuvants into four groups: delivery systems, immune potentiators, combined adjuvants, and mucosal adjuvants (Table 2).

Aluminum salts are the longest-used adjuvants and are most frequently included in vaccines, with approximately one third of currently licensed vaccines containing aluminum salts [36]. As a result, aluminum salts are the most thoroughly tested in terms of safety among vaccine adjuvants [2]. The binding of aluminum salts to the antigen enhances antigen absorption and its presentation to APCs [37]. Additionally, aluminum salts stimulate the activation of the NLRP3 inflammasome (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3; cryopyrin), leading to the production of IL-1β and IL-18, with subsequent local inflammation and recruitment of APCs [6, 38].

Clinical and experimental data obtained thus far identify at least three main risks associated with aluminum in vaccines [39]:

1) it may persist in the body;

2) it may cause pathological immunological reactions;

3) it can cross the blood-brain barrier (BBB) into the central nervous system (CNS), where it may trigger immune-inflammatory processes, leading to brain inflammation and prolonged neuronal dysfunction.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 2. Класифікація ад'ювантів (*адаптовано за* [2])
Table 2. Classification of adjuvants (*adapted from* [2])

Вакцинальні ад'юванти / Vaccine adjuvants			
Системи доставки Delivery systems	Потенціатори імунітету Immune potentiators	Комбіновані ад'юванти Combined adjuvants	Мукозальні ад'юванти Mucosal adjuvants
1. Мінеральні солі **Mineral salts**	**1. Агоністи TLR1/2** **TLR1/2 agonists**	*– AS01, AS02* *– AS04 та ін.*	*– холерний токсин* *Cholera toxin (CT)* *– термолабільний ентеротоксин (LTK3 та LTR72* *Heat-labile enterotoxin (LTK3 and LTR72)* *– хітозан та ін.* *Chitosan*
– солі алюмінію *Aluminium salts*	*– L-pampo* *– MALP-2* *– Pam2CSK4* *– Pam3CSK4 та ін.*		
2. Емульсії **Emulsions**	**2. Агоністи TLR3** **TLR3 agonists**		
– ад'юванти Фрейнда (повний та неповний) *Freund's adjuvants (complete and incomplete)* *– MF59* *– AS03 та ін.*	*– поліінозинова: поліцитидилова кислота* *polyinosinic:polycytidylic acid* *– полі-ICLC* *Poly-ICLC* *– монофосфорилліпід А (MPL) та ін.* *Monophosphoryl lipid A (MPL)*		
3. Мікрочастинки **Microparticles**	**3. Агоністи TLR4** **TLR4 agonists**		
– вірусоподібні частинки *Virus-like particles* *– віросоми / Virosomes* *– PLA/PLGA та ін.*	*– монофосфорилліпід А (MPL) та ін.* *Monophosphoryl lipid A (MPL)*		
	4. Агоністи TLR5 **TLR5 agonists**		
	– флагеллін та ін. / Flagellin		
	5. Агоністи TLR7/8 **TLR7/8 agonists**		
	– іміквімод м / Imiquimod m		
	6. Агоністи TLR9 **TLR9 agonists**		
	– CpG ODN та ін. *CpG ODNs*		

Імуностимулюючі ад'юванти походять від патогенів, що представляють патоген-асоційовані молекулярні патерни (PAMP – *pathogen-associated molecular patterns*) (наприклад, LPS, монофосфорилліпід (MPL – *monophosphoryl lipid A*), цитозинфосфогуанін-дезоксинуклеоти (CpG – *Cytosine-phosphate-Guanine*)) та ініціюють вроджений імунітет безпосередньо (через цитокіни) або через PRR, тоді як системи доставки концентрують і презентують антигени, націлюючи антигени вакцини на АПК та допомагають спільно локалізувати антигени та імунопотенціатори [40, 41].

Мукозальні ад'юванти. Першу імунізацію через поверхню слизової оболонки було здійснено ослабленим поліовірусом у 1962 р. Після цього були розроблені інші вакцини для слизової оболонки на основі *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* [42], ротавірусу [43] та вірусу грипу [44]. Введення через слизову оболонку має деякі переваги, такі як спрощена доставка, нижча вартість, небагато побічних ефектів та індукція місцевого імунітету слизової оболонки, що є важливою особливістю, коли інфекція відбувається через слизову [3, 45].

Petkar K.C. та співавт. [40] у 2021 р. запропонували класифікацію вакцинальних антигенів за механізмом їх дії (табл. 3).

Immunostimulatory adjuvants are derived from pathogens that represent pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) (e.g., LPS, monophosphoryl lipid A (MPL), cytosine-phosphate-guanine (CpG)) and initiate innate immunity either directly (via cytokines) or through PRRs, while delivery systems concentrate and present antigens, targeting vaccine antigens to APCs and helping to co-localize antigens and immune potentiators [40, 41].

Mucosal Adjuvants. The first immunization through a mucosal surface was performed with a live attenuated poliovirus in 1962. Subsequently, other mucosal vaccines were developed based on Salmonella typhi, Vibrio cholerae [42], rotavirus [43], and influenza virus [44]. Mucosal administration has certain advantages, such as simplified delivery, lower cost, minimal side effects, and the induction of local mucosal immunity, which is important when infection occurs through mucosal surfaces [3, 45].

Petkar K.C. et al. (2021) [40] proposed a classification of vaccine antigens based on their mechanism of action (Table 3).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 3. Класифікація ад'ювантів за механізмом дії (*адаптовано за* [40])
Table 3. Classification of adjuvants by mechanism of action (*adapted from* [40])

Тип механізму Type of mechanism	Репрезентативні матеріали / Representative materials		Запропонований механізм Proposed mechanism
	Приклади антигенів Antigen examples	Приклади ад'ювантів Adjuvant examples	
Утворення депо в місці введення Depot formation at the site of injection	Дифтерійний анатоксин, гепатит А, В Diphtheria toxoid, Hepatitis A, B	Галун, емульсії «вода-в-маслі», MPLA, біорозкладні частинки Alum, w/o emulsion, MPLA, biodegradable particles	Повільне вивільнення, посилене захоплення антигену та презентація АПК Slow release, enhanced antigen uptake and presentation by APCs
Залучення вродженої імунної клітини Recruitment of innate immune cell	Дифтерійний анатоксин, гепатит А, HBsAg, вірус папіломи людини (ВПЛ) Diphtheria toxoid, Hepatitis A, HBsAg, HPV	Галун, MF59, емульсії «вода-в-маслі», CpG-ODN, дисперсні ад'юванти Alum, MF59, w/o emulsion, CpG-ODN, particulate adjuvants	Посилення СТК та СМК, рекрутинг клітин у місці ін'єкції Upregulation of CTK and CMK, cellular recruitment at the site of injection
Презентація/націлювання антигену Antigen presentation/targeting	Дифтерійний анатоксин, гепатит А, HBsAg, ВПЛ Diphtheria toxoid, Hepatitis A, HBsAg, HPV	Галун, MF59, емульсії «вода-в-маслі», CpG-ODN, дисперсні ад'юванти (полімер-PLGA) Alum, MF59, w/o emulsion, CpG-ODN, particulate adjuvants (polymer-PLGA)	Націлювання антигену на АПК, поглинання антигену через PRR на поверхні (TLR і CLR) і внутрішньоклітинно (NLR і RLR), активація дендритних клітин, експресія MHC класу II Targeting antigen to APC, uptake of antigen through PRRs on surface (TLRs and CLRs) and intracellularly (NLRs and RLRs), Dendritic cell activation, MHC class II expression
Активація інфламмасом Activation of inflammasomes	Дифтерійний анатоксин Diphtheria toxoid	Галун, LPS, дисперсні ад'юванти, DAP, MDP, MF59 Alum, LPS, particulate adjuvants, DAP, MDP, MF59	Активація PRRs-NLRs (NODs) та трансактиватора MHC II Activation of PRRs-NLRs (NODs) and MHC II transactivator
Активація та дозрівання АПК Activation and maturation of APCs	Вакцини проти гепатиту А, вакцина проти грипу Hepatitis A vaccines, influenza vaccine	LPS, ліпосоми, DOTAP, CpG-ODN, MF59, AS04, α-GAL, TDM, TDB LPS, liposomes, DOTAP, CpG-ODN, MF59, AS04, α-GAL, TDM, TDB	Дозрівання дендритних клітин – регуляція молекул CD40, CD54, CD80, CD83, CD86 і MHC класу II Maturation of DC's-upregulation of CD40, CD54, CD80, CD83, CD86 and MHC class II molecules
Імуномодуляція/індукція цитотоксичних Т-лімфоцитів (CTL) Immunomodulation/CTL induction	Вакцини проти гепатиту А, вакцина проти грипу Hepatitis A vaccines, influenza vaccine	LPS, ліпосоми, DOTAP, CpG-ODN, MF59, AS04, α-GAL, TDM, TDB LPS, liposomes, DOTAP, CpG-ODN, MF59, AS04, α-GAL, TDM, TDB	Підвищена здатність АПК індукувати активацію та диференціацію Т-лімфоцитів, В-клітинну (гуморальну) та CD8+-клітинну відповідь (адаптивний) імунітет Enhanced ability of APCs to induce T lymphocyte activation and differentiation, B cell (Humoral) and CD8+ cell responses (adaptive) immunity

Notes / Примітки:

MPL-A –	Monophosphory lipid A	Монофосфорильний ліпід А
CTL –	Cytotoxic T-lymphocyte	Цитотоксичний Т-лімфоцит
PRR –	Pathogen-recognition receptors	Рецептори розпізнавання патогенів
CLRs –	C-type lectin-like receptors	Рецептори, подібні до лектинів типу С
NLRs –	Nucleotide oligomerization domain (NOD) like receptors	Рецептори, подібні до NOD
RLR –	RIG-1 like receptors	Рецептори, подібні до RIG-1
LPS –	Lipopolysaccharides	Ліпополісахариди
α-GAL –	α-galactosylceramide	α-галактосилцерамід
TDM –	Trehalose-6-6-dimycolate	Трехалозо-6-6-диміколат
TDB –	Trehalose-6-6-dibehenate	Трехалозо-6-6-дибегенат
PLGA –	Poly-lactic-co-glycolic acid	Полілактикогліколева кислота
HSA –	Human serum albumin	Людський сироватковий альбумін
DAP –	Diaminopimelic acid	Діамінопімелінова кислота
MDP –	Muramyl Dipeptide	Мураміловий дипептид
CTK –	Cytokine	Цитокін
CMK –	Chemokine	Хемокін
DOTAP –	1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane	1,2-діолеоїл-3-триметиламоній пропан
CpG DNA –	Cytosine phosphoguanine deoxynucleotides	Цитозин-фосфогуанінові дезоксинуклеотиди

У 1990-х та на початку 2000-х років відкриття PRR та їх агоністів дало нові можливості для розробки ад'ювантів [48]. Переважна більшість вакци-

In the 1990s and early 2000s, the discovery of PRRs and their agonists opened new avenues for the development of adjuvants. The vast majority of

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

нальних ад'ювантів-потенціаторів імунітету передають сигнал через PRR або діють як ліганди для вроджених імунних рецепторів (табл. 4). Останніми роками було ідентифіковано нові сімейства PRR, зокрема TLR, лектиноподібні рецептори С-типу (CLR – *C-type lectin receptors*), рецептори, подібні домену нуклеотидної олігомеризації (NOD – *nucleotide-binding oligomerization domain*), ген-1, індукований ретиноєвою кислотою (RIG-1 – *retinoic acid-inducible gene I*) та ін. [46]. Дослідження були зосереджені на лігандах TLR, чия активація викликає сильну та негайну вроджену імунну відповідь, а потім адаптивну імунну відповідь. Серед агоністів TLR два використовуються в ліцензованих вакцинах. Монофосфорилліпід А (MPL), який активує TLR4, використовується в ад'ювантах AS04 і AS01. CpG-1018 є агоністом TLR9 та ад'ювантом для вакцини проти гепатиту В, схваленої в 2017 р. [Yang JX].

Ліганди TLR безпосередньо активують АПК, такі як моноцити/макрофаги, дендритні клітини та В-клітини. Поверхнева експресія маркерів дозрівання та костимулюючих молекул, включаючи CD80, CD86 та MHC-II, збільшується в дендритних клітинах та макрофагах. Вироблення прозапальних цитокінів активованими АПК, такими як IL-1, IL-12 та інтерферони (IFN), сприяє диференціації наївних CD4+ Т-клітин до субгруп Th1, Th17 і Treg. NK-клітини та CTL також активуються, секретуючи IFN-γ і збільшуючи активність знищення, відповідно. Крім того, активація В-клітин лігандами TLR збільшує продукцію імуноглобуліну (Ig)M, IL-6, IL-10 та хемокінів. Потім В-клітини диференціюються в плазматичні клітини, що збільшує їх антигенспецифічний IgG. Оскільки агоністи TLR мають потужну імуностимулюючу дію та мають відмінну модель дії від традиційно використовуваних ад'ювантів на основі галуну та емульсії, їх досліджували в надії, що їх можна буде розробити як ад'юванти для підвищення ефективності вакцин [47].

Емульсії типу **«масло-у-воді»** були розроблені як альтернатива емульсіям **«вода-в-маслі»** та продемонстрували значно кращі профілі реактогенності [48]. Найпоширенішою масляною фазою, що міститься у рецептурах вакцин, є сквален, природна органічна сполука, спочатку отримана для комерційних цілей з жиру печінки акули та деяких рослинних джерел. З моменту розробки ад'юванту MF59, який посилює як гуморальну, так і клітинно-опосередковану відповідь Th1 і Th2, емульсії «масло-у-воді» регулярно використовуються в багатьох сезонних і пандемічних вакцинах проти грипу для дорослих [49–51].

Іншим прикладом є ад'ювант AS03, який також являє собою емульсію «масло-у-воді», що містить сквален, полісорбат 80 та α-токоферол, є компонентом багатьох вакцин проти грипу (наприклад, Pandemrix, Arepanrix) [52].

Ад'юванти Фрейнда – обмеження клінічного використання та можливості у експериментальному вивченні аутоімунних захворювань

У 1916 р. ***Le Moignic*** та ***E. Pinoy*** виявили, що суспензія вбитої *Salmonella typhimurium* у вазеліновому маслі з ланоліном здатна підвищувати імунну відповідь [53]. Пізніше, у 1924 р. ***P. Lewis & D. Loomis*** [54] використали живу туберкульозну паличку для посилення імунної відповіді.

immune-boosting vaccine adjuvants transmit signals through PRRs or act as ligands for innate immune receptors (Table 4) [48].

In recent years, new families of PRRs have been identified, including TLRs, C-type lectin receptors (CLRs), nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) receptors, retinoic acid-inducible gene I (RIG-I), and others [46]. Research in recent years has focused on TLR ligands, whose activation triggers a strong and immediate innate immune response, followed by an adaptive immune response. Among TLR agonists, two are used in licensed vaccines. Monophosphoryl lipid A (MPL), which activates TLR4, is used in the AS04 and AS01 adjuvants. CpG-1018 is a TLR9 agonist and an adjuvant for the hepatitis B vaccine approved in 2017.

TLR ligands directly activate antigen-presenting cells (APCs) such as monocytes/macrophages, dendritic cells, and B cells. The surface expression of maturation markers and costimulatory molecules, including CD80, CD86, and MHC-II, increases in dendritic cells and macrophages. The production of pro-inflammatory cytokines by activated APCs, such as IL-1, IL-12, and interferons (IFNs), facilitates the differentiation of naïve CD4+ T cells into Th1, Th17, and Treg subgroups. NK cells and CTLs are also activated, secreting IFN-γ and enhancing cytotoxic activity, respectively. Additionally, TLR ligand activation of B cells increases the production of immunoglobulin (Ig)M, IL-6, IL-10, and chemokines. B cells then differentiate into plasma cells, increasing their antigen-specific IgG. Since TLR agonists exhibit potent immunostimulatory effects and have a distinct mode of action compared to traditionally used adjuvants based on alum and emulsions, they have been studied with the hope of developing them as adjuvants to enhance vaccine efficacy [47].

Oil-in-water emulsions have been developed as an alternative to **water-in-oil** emulsions and have demonstrated significantly better reactivity profiles [48]. The most common oil phase used in vaccine formulations is squalene, a natural organic compound initially obtained from shark liver oil and some plant sources. Since the development of the adjuvant MF59, which enhances both humoral and cell-mediated Th1 and Th2 responses, oil-in-water emulsions have been regularly used in many seasonal and pandemic flu vaccines for adults [49–51].

Another example is the AS03 adjuvant, which is also an oil-in-water emulsion containing squalene, polysorbate 80, and α-tocopherol, and is a component of several flu vaccines (e.g., Pandemrix, Arepanrix) [52].

Freund's adjuvants – limitations in clinical use and opportunities in experimental study of autoimmune diseases.

In 1916, ***Le Moignic*** and ***E. Pinoy*** discovered that a suspension of killed Salmonella typhimurium in paraffin oil with lanolin could enhance the immune response [53]. Later, in 1924, ***P. Lewis and D. Loomis*** [54] used live tuberculosis bacilli to boost the immune response.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Таблиця 4. Імунні рецептори, що активовуються вакцинальними ад'ювантами (*адаптовано за* [46])
Table 4. Immune receptors activated by vaccine adjuvants (*adapted from* [46])

PRRs		Ад'ювант / Adjuvants	Тип індукованої імунної відповіді Type of immune response induced
TLRs	TLR1/2	Тріацилліпопептиди / Triacyl lipopeptides	Відповіді Th1, Th2, CTL Th1, Th2, CTL responses
		Синтетичний Pam3Cys / Synthetic Pam3Cys	
	TLR2/6	Діацилліпопептиди / Diacyl lipopeptides	Відповіді Th1, Th2, CTL Th1, Th2, CTL responses
		Pam2Cys	
	TLR2	Pam3Cys	Відповіді Th1, Th2, CTL Th1, Th2, CTL responses
	TLR3	Poly I:C	I Th1, і Th2 / Both Th1 and Th2
	TLR4	LPS, AS04 (MPL)	Th1
	TLR5	Флагеллін / Flagellin	Th1 і Th2 / Th1 and Th2
	TLR 7	Іміквімод / Imiquimod	Відповіді Th1, CD8 + Т-клітин, CTL Th1, CD8+ T cell, CTL responses
		резиквімод / Resiquimod	
	TLR8	резиквімод / Resiquimod	Відповіді Th1, CD8 + Т-клітин, CTL Th1, CD8+ T cell, CTL responses
	TLR9	CpG-ODN	Th1, CD8 + Т-клітини, відповіді CTL Th1, CD8+ T cell, CTL responses
NLRs	NOD1/NLRC1	DAP	Th1, Th2, Th17
	NOD2/NLRC2	MDP	Th1, Th17
	NLRP1	Анатоксини, MDP / Toxoids, MDP	Th1
	NLRP3	Галун, МДП, АТФ / Alum, MDP, ATP	Th2
	IPAF/NLRC4	Флагеллін / Flagellin	Th1 і Th2 / Th1 and Th2
	NAIP5	Флагеллін / Flagellin	Th1 і Th2 / Th1 and Th2
РЛР / RLRs	РІГ-1	Вектори ДНК / DNA vectors	Th1, CD8 + Т-клітини / Th1, CD8+ T cells
	MDA5	Poly I:C	Th1, CD8 + Т-клітини / Th1, CD8+ T cells
CLRs	Дектин-1 Dectin-1	Флагелін, β-глюкан/зимозан Flagellin, β-glucan/zymosan	Th17
	Mincle	CAF01	Th1, Th17 CD8 + Т-клітини Th1, Th17 CD8+ T cells

Notes / Примітки:

Pam3Cys –	Tri-palmitoyl-S-glyceryl cysteine	Три-пальмітоїл-S-гліцерилцистеїн
LPS –	Lipopolysaccharide	Ліпополісахарид
AS04 –	Adjuvant system 04	Ад'ювантна система 04
MPL –	Monophosphoryl lipid A	Монофосфорилліпід А
CpG-ODN –	Cytidine-phosphate-guanosine oligodeoxynucleotides	Цитидин-фосфат-гуанозин олігодезоксинуклеотиди
Poly I –	Polyinosinic-polycytidylic acid	Поліінозин-поліцитидилова кислота
DAP –	Diaminopimelic acid	Діамінопімелінова кислота
MDP –	Muramyl dipeptide	Мурамілдипептид
CAF01 –	Cationic adjuvant formulation-01	Катіонна ад'ювантна композиція-01
TLR –	Toll-like receptor	Толл-подібний рецептор
NLR –	NOD-like receptors	NOD-подібні рецептори
RLR –	RIG-1 like receptors	RIG-1 подібні рецептори
CLR –	C-type lectins	Лектини С-типу
NOD –	Nucleotide-binding oligomerization domain	Домен олігомеризації, що зв'язує нуклеотиди
NLRP3 –	NOD-like receptor family, pyrin-domain-containing 3	Сімейство NOD-подібних рецепторів, що містить піриновий домен 3
IPAF –	IL-1β-converting enzyme protease-activating factor	Фактор активації протеази IL-1β-перетворюючого ферменту
NAIP –	Neuronal apoptosis inhibitory protein	Білок, інгібуючий апоптоз нейронів
RIG-1 –	Retinoic acid-inducible gene-1	Ген-1, індукований ретиноєвою кислотою
MDA5 –	Melanoma differentiation associated gene 5	Ген 5, пов'язаний з диференціацією меланоми

На основі результатів вищенаведених досліджень [53, 54] ***Jules Freund (1890–1960 рр.)*** розробив повний ад'ювант Фрейнда, звіт про що було опубліковано у 1942 р. у співавторстві з *K. McDermott* [55]).

Ми знаємо про *J. Freund* (рис. 3) те, що він зробив успішну кар'єру в австро-угорській армії, а після служби під час Першої світової війни він повернувся до Будапештського університету. Ставши доцентом профілактичної медицини, він переїхав до Гамбурзької медичної школи в Німеччині, а потім у 1922 р. до Гарвардського університету. У США він став головною

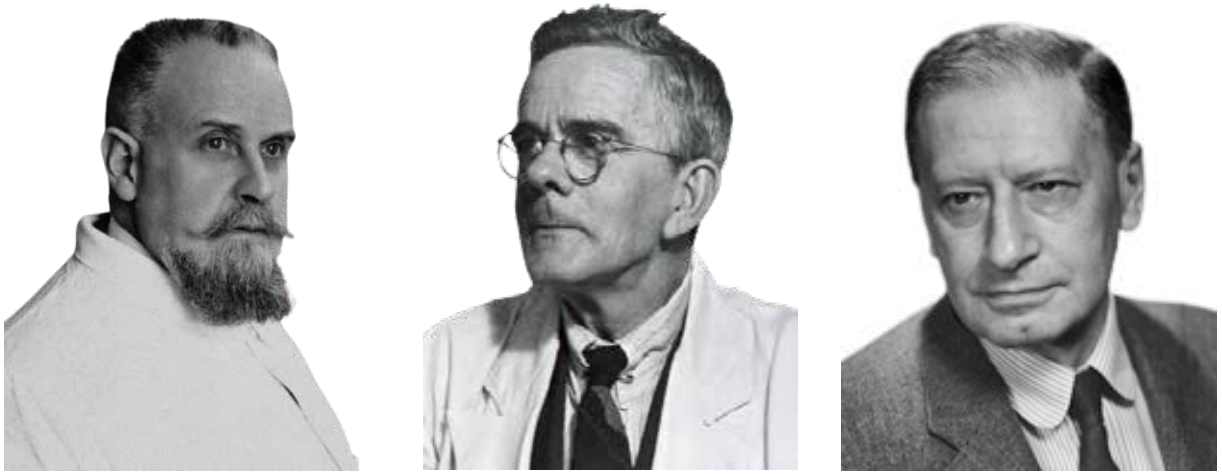
Based on the results of the aforementioned studies [53, 54], ***Jules Freund (1890–1960)*** developed the complete Freund's adjuvant, with a report published in 1942 co-authored with *K. McDermott* [55].

We know about *J. Freund* (see Fig. 3) that he had a successful career in the Austro-Hungarian army, and after serving during World War I, he returned to Budapest University. After becoming an associate professor of preventive medicine, he moved to the Hamburg Medical School in Germany, and then in 1922 to Harvard University. In the U.S., he became a prominent

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

фігурою в імунологічній спільноті, закінчивши свою кар'єру в Національному інституті здоров'я [56].

figure in the immunology community, ending his career at the National Institutes of Health [56].



Gaston Ramon (1886–1963) **Alexander Glenny** (1882–1965) **Jules Freund** (1890–1960)

Рис. 3. Імунологи-засновники концепції вакцинальних ад'ювантів
Fig. 3. Founding Immunologists of the Vaccine Adjuvant Concept

На сьогоднішній день в експериментальному виробництві антитіл жоден інший ад'ювант не зміг перевершити повний ад'ювант Фрейнда. Однак його використання не позбавлене різних серйозних побічних ефектів, тому він тривалий час майже не використовувався в медицині і ветеринарії [56].

Пізніше *J. Freund* виявив, що включення вбитих мікобактерій не має вирішального значення для функції ад'юванту, і що антиген в емульсії парафінової олії типу «вода-в-маслі» був настільки ж ефективним у збільшенні та подовженні вироблення специфічних антитіл [55, 59]. Це призвело до розробки **неповного ад'юванту Фрейнда**, який є емульсією «вода-в-маслі» без убитих мікобактерій.

У той час *J. Freund* не зміг встановити, що саме у вбитих нагріванням (інактивованих) *M. tuberculosis* виступало активним агентом [Greenblatt CL]. У 1970 р. дослідники почали активно вивчати ключові патогенно-асоційовані молекулярні структури, які беруть участь у посиленні відповіді імунної системи під дією ад'юванту Фрейнда, що призвело до ідентифікації мурамілдипептиду, як одного з ключових пептидогліканових компонентів клітинної стінки бактерій, які можуть замінити мікобактеріальні клітини у повному ад'юванті Фрейнда [56–58].

Водно-масляні емульсії, в яких краплі води утримуються в безперервній фазі мінерального масла, містять убиті *M. tuberculosis* або не містять їх, забезпечували потужну імуногенність та використовувалися в ранніх вакцинах проти грипу [48, 60, 61]. Масштабне дослідження, проведене у 1953 р., за участю 18 тис. військовослужбовців армії США, імунізованих проти грипу з використанням неповного ад'юванту Фрейнда, показало відсутність у вказаного ад'юванта віддаленого впливу на сполучнотканинні захворювання, неоплазію або смерть [59].

Механізм дії неповного ад'юванту Фрейнда. Імунізація короткими пептидами MHC-I в депо антигену спричиняє повільне вивільнення антигену в мікрооточення місця вакцинації. Через низьку імуногенність

To date, in the experimental production of antibodies, no other adjuvant has surpassed Freund's complete adjuvant. However, its use is not without various serious side effects, which is why it has been rarely used in medicine or veterinary practice for a long time [56].

Later, *J. Freund* discovered that the inclusion of killed mycobacteria was not crucial for the adjuvant's function, and that the antigen in a water-in-oil emulsion was just as effective in increasing and prolonging the production of specific antibodies [55, 59]. This led to the development of **Freund's incomplete adjuvant,** which is a water-in-oil emulsion without killed mycobacteria.

At that time, *J. Freund* was unable to determine what specifically in heat-killed (inactivated) *M. tuberculosis* acted as the active agent [Greenblatt CL]. In 1970, researchers began actively studying key pathogen-associated molecular structures involved in enhancing the immune response under the influence of Freund's adjuvant, leading to the identification of muramyl dipeptide as one of the key peptidoglycan components of bacterial cell walls that could replace mycobacterial cells in Freund's complete adjuvant [56–58].

Water-in-oil emulsions, which contain droplets of water suspended in a continuous phase of mineral oil, whether containing killed *M. tuberculosis* or not, provided strong immunogenicity and were used in early influenza vaccines [48, 60, 61]. A large-scale study conducted in 1953 involving 18,000 U.S. Army servicemen immunized against influenza using Freund's incomplete adjuvant showed no separated effect of this adjuvant on connective tissue diseases, neoplasia, or mortality [59].

Mechanism of Action of Freund's Incomplete Adjuvant. Immunization with short peptides in MHC-I antigen depots results in slow antigen release into the microenvironment of the vaccination site. Due to the

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

одного ад'юванта дендритні клітини залишатимуться незрілими або погано активовані та, за відсутності ко-стимуляції та допомоги CD4+ Т-клітин, викликають погано активовану або навіть толерогенну відповідь CD8+ Т-клітин у лімфатичному вузлі, що дренує вакцину. Антиген забезпечує пряме осадження на молекулах MHC-I без необхідності обробки антигеном та викликає накопичення і опосередкований FasL апоптоз пухлиноспецифічних Т-клітин [59]. Імунізація синтетичними довгими пептидами, включаючи MHC класу I і епітопів класу II, в неповному ад'юванті Фрейнда та/або додавання агоніста TLR як додаткового ад'юванту створює більш запальне мікрооточення місця вакцинації. Дендритні клітини отримують додаткові сигнали дозрівання через агоністи TLR, що індукує експресію молекул MHC і костимулюючих рецепторів, що призводить до правильного праймінгу CD8+ Т-клітин у лімфатичному вузлі. Додавання епітопів CD4+ Т-клітин забезпечує локальну допомогу CD4 у мікрооточенні місця вакцинації, а також під час праймування як у лімфатичному вузлі, так і на ефекторній стадії пухлини. Крім того, сигнали запалення активують запальні макрофаги та посилюють експресію запальних цитокінів і хемокінів у місця вакцинації, викликаючи накопичення В- і Т-клітин [59].

У 1960-х роках минулого століття наукове співтовариство зацікавилося клінічним та імунологічним ефектом ін'єкції мікобактеріального ад'юванту Фрейнда в експерименті. Генералізоване захворювання було викликано експериментально у щурів шляхом введення повного ад'юванту Фрейнда. Первинними клініко-патологічними ураженнями були артрит, періартрит, перитендиніт, періостит у суглобах кінцівок і хвоста. Спостерігалися й інші специфічні ураження тканин, такі як іридоцикліт, вузликові ураження голої шкіри (вухо, геніталії, стопи, хвіст), минущі висипання, хронічні захворювання шкіри, ураження сечостатевої системи та діарея. Гістологічно основним ураженням була лімфоцитарна, гістіоцитарна інфільтрація, проліферація мезенхімальних клітин, особливо фібробластів, фібриноїдний некроз у суглобово-вузликових ураженнях, деструктивні ураження суглобів. Це експериментальне захворювання продемонструвало схожість із синдромом Рейтера при реактивному артриті та інших аутоімунних захворюваннях у людей [62].

Пізніше у овець, імунізованих базальними мембранами легенів людини та повним мікобактеріальним антигеном, розвинувся прогресуючий гломерулонефрит з відкладенням аутоантитіл і комплементу в базальній мембрані клубочків, що, можливо, було першим аутоімунним захворюванням, індукованим неорганоспецифічними антигенами. За клінічними та імунопатологічними критеріями цей нефрит був помітно схожий на нефрит людини, як при хворобі Гудпасчера [62].

У 1970-х роках морських свинок сенсибілізували до туберкуліну за допомогою повного ад'юванту Фрейнда та заражали центральну та периферичну нервову систему живими або вбитими обробленими ультразвуком туберкульозними паличками, туберкуліном або похідним очищеного туберкуліну білка. Незмінно виникали місцеві запальні реакції, а первинна демієлінізація була постійною ознакою уражень. Морфологічна картина була досить схожа на таку, що спостерігалася при нейротуберкульозі людини та

low immunogenicity of the adjuvant, dendritic cells remain immature or poorly activated, and in the absence of co-stimulation and help from CD4+ T cells, they induce a poorly activated or even tolerogenic response of CD8+ T cells in the draining lymph node. The antigen provides direct deposition on MHC-I molecules without the need for antigen processing and causes the accumulation and mediated FasL apoptosis of tumor-specific T cells [59]. Immunization with synthetic long peptides, including MHC class I and class II epitopes in Freund's incomplete adjuvant, and/or the addition of a TLR agonist as an additional adjuvant creates a more inflammatory microenvironment at the vaccination site. Dendritic cells receive additional maturation signals through TLR agonists, which induces the expression of MHC molecules and co-stimulatory receptors, leading to proper priming of CD8+ T cells in the lymph node. The addition of CD4+ T cell epitopes provides local CD4 help in the vaccination microenvironment as well as during priming in both the lymph node and the effector stage of the tumor. Additionally, inflammatory signals activate inflammatory macrophages and enhance the expression of inflammatory cytokines and chemokines at the vaccination site, causing the accumulation of B and T cells [59].

In the 1960s, the scientific community became interested in the clinical and immunological effects of injecting Freund's mycobacterial adjuvant in experiments. Generalized disease was experimentally induced in rats by administering Freund's complete adjuvant. The primary clinical and pathological lesions included arthritis, periarthritis, peritendinitis, and periostitis in the joints of limbs and tail. Other specific tissue lesions were observed, such as iridocyclitis, nodular lesions of bare skin (ears, genitals, paws, tail), transient rashes, chronic skin diseases, urogenital system lesions, and diarrhea. Histologically, the main lesion was lymphocytic and histiocytic infiltration, proliferation of mesenchymal cells, especially fibroblasts, fibrinoid necrosis in joint-nodular lesions, and destructive joint lesions. This experimental disease demonstrated similarities to Reiter's syndrome in reactive arthritis and other autoimmune diseases in humans [62].

Later, in sheep immunized with human lung basement membranes and complete mycobacterial antigen, progressive glomerulonephritis developed, characterized by the deposition of autoantibodies and complement in the basement membrane of glomeruli. This may have been the first autoimmune disease induced by non-organ-specific antigens. Clinically and immunopathologically, this nephritis was notably similar to human nephritis seen in Goodpasture's disease [62].

In the 1970s, guinea pigs were sensitized to tuberculin using Freund's complete adjuvant and infected in the central and peripheral nervous systems with live or killed ultrasound-treated Mycobacterium tuberculosis, tuberculin, or a purified protein derivative. Local inflammatory reactions consistently occurred, and primary demyelination was a persistent feature of the lesions. The morphological picture was quite similar to that observed in human neurotuberculosis and early tuberculous leprosy, as well as in experimental allergic encephalomyelitis. Cell-mediated immunity

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ранній туберкульозній лепрі, а також при експериментальному алергічному енцефаломієліті. Клітинно-опосередковані імунні реакції очевидно відповідали за компонент демієлінізації, що спостерігається при деяких запальних демієлінізуючих станах [62].

Модель ад'ювантного артриту, індукованого повним ад'ювантом Фрейнда, було створена для вивчення патогенезу артриту, включаючи ревматоїдний артрит, подагру та остеоартрит, а також для оцінки ефективності деяких протиартритних та протизапальних препаратів [63, 67].

При дослідженні на щурах ін'єкцію виконують між другим і третім пальцями (рис. 4) в тильну частину задньої лапи [65, 66].

was evidently responsible for the demyelination component observed in some inflammatory demyelinating conditions [62].

An adjuvant arthritis model induced by Freund's complete adjuvant was created to study the pathogenesis of arthritis, including rheumatoid arthritis, gout, and osteoarthritis, as well as to evaluate the efficacy of some anti-arthritis and anti-inflammatory drugs [63, 67].

In studies on rats, the injection is performed between the second and third toes (Fig. 4) in the dorsal part of the hind paw [65, 66].

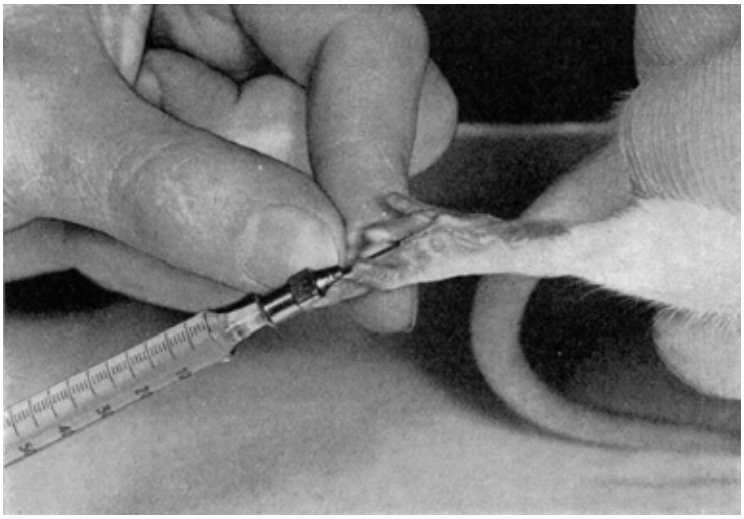


Рис. 4. Техніка інокуляції ад'юванту Фрейнда у задню кінцівку шурів [64]
Fig. 4. Technique for inoculating Freund's adjuvant into the hind limb of mice [64]

Субплантарна ін'єкція повного ад'юванта Фрейнда в подушечку кінцівки щура призводить до шкірного запалення та місцевої гіперемії [68, 69], що починається вже через 2 год. та досягає піку протягом 6–8 год. [70]. Це гостре запалення триває протягом 3–4 днів [68], коли рівень швидкості осідання еритроцитів, кількості нейтрофілів та лейкоцитів у крові починає збільшуватися [71, 72]. Потім через 1–2 тижні після ін'єкції повного ад'юванта розвивається гіпералгезія та набряк у щиколотці та дорсальній ділянці плесна [70, 73] через велику інфільтрацію нейтрофілів та проліферацію синовіальної оболонки [74]. Запалення починає впливати на сусідні суглоби [74], оскільки макрофаги вивільняють прозапальні цитокіни, такі як TNF-α та IL-1β. TNF-α може діяти разом з IL-1β, щоб індукувати внутрішньоклітинну адгезію та міграцію, вироблення білків гострої фази, протеолітичних ферментів та ангіогенезу [72, 75], моноцит-хемоатрактанта білка-1 (MCP-1), макрофагального запального білка-1α (MIP-1α), інтерлейкіни (IL-6 та IL-12) та епітеліально-нейтрофільний активуючий пептид-78 (ENA-78) в синовіоцитах ураженого суглоба [76–78]. Запальні реакції зрештою призводять до хронічного артриту завдяки механізмам позитивного зворотного зв'язку [67, 74, 79].

Щоб стандартизувати прогресування артриту у гризунів, як у людей, *De Castro Costa M. та співавт.* [80] класифікував прогресування захворювання на кілька

Subplantar injection of Freund's complete adjuvant into the rat paw pad leads to skin inflammation and local hyperemia [68, 69], starting as early as 2 hours post-injection and peaking within 6–8 hours [70]. This acute inflammation lasts for 3–4 days [68], during which the erythrocyte sedimentation rate, as well as neutrophil and leukocyte counts in the blood, begin to increase [71, 72]. Then, 1–2 weeks post-injection, hyperalgesia and swelling develop in the ankle and dorsal metatarsal region [70, 73] due to significant neutrophil infiltration and synovial membrane proliferation [76]. Inflammation begins to affect neighboring joints [74] as macrophages release pro-inflammatory cytokines such as TNF-α and IL-1β. TNF-α can act alongside IL-1β to induce intracellular adhesion and migration, production of acute-phase proteins, proteolytic enzymes, and angiogenesis [72, 75], as well as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1α (MIP-1α), interleukins (IL-6 and IL-12), and epithelial-neutrophil-activating peptide-78 (ENA-78) in the synoviocytes of the affected joint [76–78]. Ultimately, inflammatory responses lead to chronic arthritis through positive feedback mechanisms [67, 74, 79].

To standardize the progression of arthritis in rodents, similar to humans, *De Castro Costa M. et al.* [80] classified the progression of the disease into several phases: 1) preclinical (1–10 days), 2) acute (15–30 days),

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

фаз: 1) доклінічну (1–10 днів), 2) гостру (15–30 днів), 3) післягостру (30–50 днів) та 4) пізню (більше 50 днів).

У дослідженні *Zhang W. та співавт.* [81] показали, що рівень аргініну значно знижується у тварин після введення повного ад'юванту Фрейнда, що може безпосередньо опосередковувати запальну відповідь і викликати запальний біль. Оскільки аргінін бере участь у синтезі нейромедіатора NO, який може виробляти антиноцицептивні природні опіоїди та опосередкований рецептором N-метил-d-аспартату знеболювальний ефект, у той час як виснаження нейромедіаторів, викликане зниженням аргініну, може сприяти запальному болю. Крім того, гістидин тісно пов'язаний із процесами запалення, регулюючи синтез нейромедіаторів гістаміну. Дані метаболомії показали, що експресія гістидину була посилена після ін'єкції повного ад'юванту Фрейнда і в кінцевому підсумку призвела до хронічного запалення [81]. У сукупності ці дослідження відкривають нову перспективу для розуміння патологічного процесу хронічного запального болю, спричиненого повним ад'ювантом Фрейнда, і посилення зусиль для розробки нових терапевтичних стратегій [81].

Ад'ювантний артрит, викликаний субплантанним введенням лише тільки ад'юванту Фрейнда, вважають моделлю системного аутоімунного захворювання – ревматоїдного артриту, проте існує й більш специфічна модель з прицільним ураженням суглобів – **колаген-індукований артрит.** Зазначений тип модельного артриту найчастіше індукуються колагеном II типу, який міститься в суглобовому хрящі, в комбінації з повним або неповним ад'ювантом Фрейнда [82].

У експериментальних дослідженнях найчастіше використовують ад'юванти Фрейнда комерційного виробництва (*Difco Laboratories, Sigma* тощо), проте його можна приготувати самостійно у лабораторних умовах.

Технологія отримання повного ад'юванту Фрейнда. При приготуванні у лабораторних умовах замість Mycobacterium tuberculosis частіше використовують ослаблений вакцинальний штам *Mycobacterium bovis* – так звана *Bacille Calmette-Guerin* (BCG), оскільки перевірена часом так звана «вакцина БЦЖ» (від *англ.* BCG) є доступною в аптечній мережі України у вигляді ліофілізату. Повний ад'ювант Фрейнда готують шляхом подрібнення у ступці 60 мг убитого нагріванням ліофілізату БЦЖ та додавання суміші рідкого парафіну (парафінова олія) та ланоліну у співвідношенні об'ємів 2:1, щоб кінцева концентрація БЦЖ становила 10 мг/мл [66]. Іноді замість ланоліну використовують моноолеат манози, а замість парафінової олії – вазелінове масло [83–85].

Застосування ПАФ дозволяє відтворити в експерименті цілу низку імуноопосередкованих захворювань – ревматоїдний артрит, аутоімунний міокардит, аутоімунний гепатит, аутоімунний тиреоїдит, алергічний енцефаломієліт, силікатоз, аутоімйнний нефрит та ін. Експериментальне відтворення органоспецифічних аутоімунних захворювань в експериментальній імунології найчастіше виконують шляхом введенням антигенних сумішей, які складались з повного ад'юванту Фрейнда та розчинних фракцій гомогенатів алогенних органів. Підґрунтям такого підходу слугували дані *Kment A. та співавт.* про специфічне включення мічених тканинних гомогенатів у гомологічні органи

3) post-acute (30–50 days), and 4) late (more than 50 days).

In a study by *Zhang W. et al.* [81], it was shown that the level of arginine significantly decreases in animals after the administration of Freund's complete adjuvant, which may directly mediate the inflammatory response and cause inflammatory pain. Since arginine is involved in the synthesis of the neurotransmitter NO, which can produce antinociceptive natural opioids and receptor-mediated NMDA analgesic effects, its depletion may contribute to inflammatory pain. Additionally, histidine is closely related to inflammatory processes, regulating the synthesis of the neurotransmitter histamine. Metabolomic data showed that histidine expression was enhanced after the injection of Freund's complete adjuvant, ultimately leading to chronic inflammation [81]. Collectively, these studies open new perspectives for understanding the pathological process of chronic inflammatory pain induced by Freund's complete adjuvant and strengthen efforts to develop new therapeutic strategies [81].

Adjuvant arthritis induced by subplantar injection of Freund's adjuvant is considered a model of systemic autoimmune disease – rheumatoid arthritis – however, there is also a more specific model with targeted joint damage – **collagen-induced arthritis.** This type of model arthritis is most often induced by type II collagen, found in articular cartilage, in combination with Freund's complete or incomplete adjuvant [82].

In experimental studies, commercial Freund's adjuvants (e.g., from *Difco Laboratories, Sigma*, etc.) are most frequently used; however, it can also be prepared in laboratory conditions.

Preparation Technology for Freund's Complete Adjuvant. In laboratory preparations, a weakened vaccine strain of *Mycobacterium bovis* – the so-called *Bacille Calmette-Guérin* (BCG) – is often used instead of Mycobacterium tuberculosis, as the time-tested BCG vaccine is readily available in pharmacies in Ukraine in lyophilized form. Freund's complete adjuvant is prepared by grinding 60 mg of heat-killed BCG lyophilizate in a mortar and adding a mixture of liquid paraffin (paraffin oil) and lanolin in a volume ratio of 2:1, resulting in a final concentration of BCG of 10 mg/ml [66]. Sometimes, instead of lanolin, mannosyl monooleate is used, and instead of paraffin oil, either vaseline oil [83–85].

The use of Freund's complete adjuvant allows the experimental reproduction of a range of immune-mediated diseases-rheumatoid arthritis, autoimmune myocarditis, autoimmune hepatitis, autoimmune thyroiditis, allergic encephalomyelitis, silicosis, autoimmune nephritis, and more. The experimental reproduction of organ-specific autoimmune diseases in experimental immunology is most often conducted by administering antigenic mixtures consisting of Freund's complete adjuvant and soluble fractions of homogenates from allogeneic organs. The basis for this approach was the data from *Kment A. et al.* regarding the specific incorporation of labeled tissue homogenates into homologous organs of experimental animals. Researchers

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

піддослідних тварин. Дослідники виявили значно більшу інкорпорацію екстрактів з тканинних гомогенатів в гомологічних, ніж в негомологічних органах [86].

Експериментальний алергічний енцефаломієліт (АЕМ) це аутоімунна модель поствакцинальних і параінфекційних енцефаломієлітів та розсіяного склерозу, дозволяє вивчити не тільки хронічну форму демієлінізуючих захворювань, але й гострі реактивні форми енцефаломієлітів [87]. Біохімічні, імунологічні та морфологічні зміни при АЕМ мають принципову схожість з аналогічними змінами, що супроводжують аутоімунні демієлінізуючі ураження нервової системи в клініці, що дає підставу вважати експериментальний алергічний енцефаломієліт адекватною та оптимальною моделлю [88, 89].

За даними [88, 89] АЕМ, як і розсіяний склероз, супроводжується порушенням проникності ГЕБ і його функціональним ослабленням, периваскулярною запальною інфільтрацією в ЦНС, розвитком процесу демієлінізації, пошкодженням олігодендроцитів і аксонів, локальною активацією гліальних клітин [90]. Активовані Т-клітини (CD4+), інші лімфоцити і макрофаги мігрують у ЦНС через пошкоджений ГЕБ. Продукція лімфоцитами і гліальними клітинами запальних факторів зумовлює формування вогнищ запалення, демієлінізацію і фагоцитоз залишків мієліну [91]. На ранніх стадіях гострої форми експериментального АЕМ запальні цитокіни [92] і хемокіни [93] можуть ініціювати токсичний ефект щодо олігодендроцитів, який, імовірно, опосередковується дією TNF-α або вільних радикалів; підвищення рівня останніх зумовлено надмірною активністю NO-синтази [94]. Макрофаги, які проникають у тканини ЦНС, можуть фагоцитувати мієлін і синтезувати низку факторів, потенційно небезпечних для мієлінових оболонок [95].

АЕМ моделюють шляхом введення щурам підшкірно в основу хвоста енцефалітогенної емульсії у дозі 1,0 мл/кг маси тіла. Емульсія складається з повного ад'юванту Фрейнда та гомогенату алогенного головного мозку у співвідношенні 1:1. Енцефалітогенну емульсію для щурів готують за методикою [96, 97]. Перебіг АЕМ відбувається у три стадії [98]:

1. Відтворення клонів антигенспецифічних Т- і В-лімфоцитів.

2. Міграція антигенспецифічних Т-лімфоцитів у тканини ЦНС із загального кровотоку, пряма цитотоксична дія, продукція цитокінів.

3. Перерозподіл клітинних популяцій, загибель і міграція антигенспецифічних Т-лімфоцитів з ЦНС. Період клінічного одужання тварин, що вижили.

Модель аутоімунного тиреоїдиту (АІТ) відтворюють шляхом введення щурам тиреоїдної антигенної суміші, яка складається з повного ад'юванту Фрейнда та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної щитоподібної залози у співвідношенні 1:1 [99, 100]. Антиген щитоподібної залози стандартизують за вмістом загального білка (1–1,5 мг/мл) [99–101]. Отриману тиреоїдну антигенну суміш вводять щурам підшкірно в основу хвоста у дозі 1,0 мл/кг маси тіла двічі з інтервалом у 7 днів [100, 101]. Розвиток АІТ верифікують за рівнем антитіл до тиреоглобуліну через 7 днів після другого введення тиреоїдної антигенної суміші (14 день експерименту).

found significantly greater incorporation of extracts from tissue homogenates in homologous than in non-homologous organs [86].

Experimental allergic encephalomyelitis (EAE) is an autoimmune model of post-vaccination and para-infectious encephalomyelitis and multiple sclerosis, allowing the study of not only the chronic form of demyelinating diseases but also acute reactive forms of encephalomyelitis [87]. Biochemical, immunological, and morphological changes in EAE have a fundamental similarity to analogous changes that accompany autoimmune demyelinating lesions of the nervous system in clinical settings, providing grounds to consider experimental allergic encephalomyelitis an adequate and optimal model [88, 89].

According to [88, 89], EAE, like multiple sclerosis, is accompanied by a disruption of the blood-brain barrier (BBB) and its functional impairment, perivascular inflammatory infiltration in the CNS, development of demyelination processes, damage to oligodendrocytes and axons, and local activation of glial cells [90]. Activated T cells (CD4+), other lymphocytes, and macrophages migrate into the CNS through the damaged BBB. The production of inflammatory factors by lymphocytes and glial cells leads to the formation of inflammatory foci, demyelination, and phagocytosis of myelin debris [91]. In the early stages of acute experimental EAE, inflammatory cytokines [92] and chemokines [93] can initiate a toxic effect on oligodendrocytes, likely mediated by TNF-α or free radicals; the increase in the latter is caused by excessive activity of NO synthase [94]. Macrophages that infiltrate CNS tissues can phagocytose myelin and synthesize a range of factors potentially harmful to myelin sheaths [95].

EAE is modeled by subcutaneously injecting rats at the base of the tail with an encephalitogenic emulsion at a dose of 1.0 ml/kg body weight. The emulsion consists of Freund's complete adjuvant and a homogenate of allogenic brain tissue in a 1:1 ratio. The encephalitogenic emulsion for rats is prepared according to the methodology [96, 97]. The course of EAE occurs in three stages [98]:

1. Clonal expansion of antigen-specific T and B lymphocytes.

2. Migration of antigen-specific T lymphocytes into CNS tissues from the systemic circulation, direct cytotoxic action, and cytokine production.

3. Redistribution of cell populations, death, and migration of antigen-specific T lymphocytes from the CNS. Period of clinical recovery in surviving animals.

The model of autoimmune thyroiditis (AIT) is reproduced by injecting rats with a thyroid antigenic mixture consisting of Freund's complete adjuvant and a solution of antigen obtained from a homogenate of allogenic thyroid tissue in a 1:1 ratio [99, 100]. The thyroid antigen is standardized based on the total protein content (1–1.5 mg/ml) [99–101]. The resulting thyroid antigenic mixture is administered to rats subcutaneously at the base of the tail at a dose of 1.0 ml/kg body weight twice with a 7-day interval [100, 101]. The development of AIT is verified by measuring the level of antibodies to thyroglobulin 7 days after the second administration of the thyroid antigenic mixture (day 14 of the experiment).

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Експериментальний аутоімунний міокардит (АІМ) відтворюють за методикою Павленко Г.П. [102] шляхом внутрішньоочеревинного введення щурам кардіотропної антигенної суміші, яка складається з повного ад'юванту Фрейнда та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенного серця у співвідношенні 1:4. Кардіотропну антигенну суміш вводять щурам 4 рази впродовж 14 днів (з інтервалом 3 дні) по 1,0 мл/кг маси тіла [102–104].

Експериментальний аутоімунний нефрит (АІН, *син.* нефрит Хеймана) як експериментальну модель аутоімунної мембранозної нефропатії, відтворюють за методикою ***Heymann W.R. та співавт.*** (1965 р.) [105] у модифікації Віхерта А.М. (1973 р.) шляхом введення щурам нефротропної антигенної суміші, яка складається з повного ад'юванту Фрейнда та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної тканини нирок у співвідношенні 1:1 [106–108]. Нирковий антиген виготовляли з коркового шару нирок у вигляді 20,0% гомогенату. Антигенну суміш вводять тваринам у дозі 7,4 мл/кг в рівній кількості у п'ять ділянок тіла – підшкірним в пахові та пахвові ділянки, а також внутрішньоочеревинно. Через 4 тижні з метою потенціювання аутоімунного процесу введення нефротропної антигенної суміші повторювали [109–113].

Модель аутоімунного гепатиту (АІГ) у щурів моделюють шляхом введення щурам гепатотропної антигенної суміші, яка складається з повного ад'юванту Фрейнда та розчину антигену, отриманого з гомогенату алогенної печінки [114]. Гепатотропну антигенну суміш вводять щурам внутрішньом'язово по 2,0 мл 1 раз на тиждень упродовж 6 тижнів [114].

Experimental autoimmune myocarditis (AIM) is reproduced according to the methodology of Pavlenko G.P. [102] by intraperitoneally injecting rats with a cardiotropic antigenic mixture consisting of Freund's complete adjuvant and a solution of antigen obtained from a homogenate of allogenic heart tissue in a 1:4 ratio. The cardiotropic antigenic mixture is administered to rats 4 times over 14 days (with a 3-day interval) at a dose of 1.0 ml/kg body weight [102–104].

Experimental autoimmune nephritis (AIN, also known as Heymann nephritis), as an experimental model of autoimmune membranous nephropathy, is reproduced according to the methodology of ***Heymann W.R. et al.*** (1965) [105] in the modification by Vikher A.M. (1973) by injecting rats with a nephrotropic antigenic mixture, consisting of Freund's complete adjuvant and a solution of antigen obtained from a homogenate of allogenic kidney tissue in a 1:1 ratio [106–108]. The renal antigen is made from the renal cortex as a 20.0% homogenate. The antigenic mixture is administered to the animals at a dose of 7.4 ml/kg, evenly distributed across five body sites-subcutaneously in the groin and axillary areas, as well as intraperitoneally. Four weeks later, to potentiate the autoimmune process, the nephrotropic antigenic mixture is re-administered [109–113].

The model of autoimmune hepatitis (AIH) in rats is modeled by injecting a hepatotropic antigenic mixture, which consists of Freund's complete adjuvant and a solution of antigen obtained from a homogenate of allogenic liver tissue [114]. The hepatotropic antigenic mixture is administered to rats intramuscularly at a dose of 2.0 ml once a week for 6 weeks [114].

ВИСНОВКИ

Вакцинальні ад'юванти представлені широким колом хімічних сполук та речовин, які здатні посилювати імунні відповіді шляхом фізичного або хімічного зв'язку з антигенами. Ефективність вакцини залежить не лише від компонентів антигену, а й від ад'ювантів, які використовуються для більш ефективної стимуляції імунної системи.

Найбільший вплив на становлення сучасного уявлення про вакцинальні антигени та імунологію в цілому у XX ст. мали Gaston Ramon (1886–1963), Alexander Glenny (1882–1965) та Jules Freund (1890–1960).

Повний ад'ювант Фрейнда історично був і залишається одним із найкорисніших інструментів імунологів. Застосування антигенних сумішей з екстрактів біологічних тканин та повного ад'юванту Фрейнда дозволяє відтворити в експерименті низку органоспецифічних аутоімунних захворюваннь у лабораторних тварин (аутоімунні артрит, міокардит, гепатит, тиреоїдит, енцефаломієліт та ін.), що дає можливість проводити доклінічні дослідження ефективності потенційних імуномоделюючих та симптоматичних терапевтичних агентів.

CONCLUSIONS

Vaccine adjuvants are represented by a wide range of chemical compounds and substances that can enhance immune responses through physical or chemical binding to antigens. The effectiveness of a vaccine depends not only on the components of the antigen but also on the adjuvants used for more effective stimulation of the immune system.

The most significant impact on the formation of modern understanding of vaccine antigens and immunology in general in the 20th century was made by Gaston Ramon (1886–1963), Alexander Glenny (1882–1965), and Jules Freund (1890–1960).

Freund's complete adjuvant has historically been and remains one of the most valuable tools for immunologists. The use of antigenic mixtures from biological tissue extracts and Freund's complete adjuvant allows for the reproduction of several organ-specific autoimmune diseases in laboratory animals (such as autoimmune arthritis, myocarditis, hepatitis, thyroiditis, encephalomyelitis, etc.), enabling preclinical studies of the effectiveness of potential immunomodulatory and symptomatic therapeutic agents.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Verma S.K., Mahajan P., Singh N.K. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective. *Frontiers in immunology.* 2023. Vol. 14. 1043109 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1043109

REFERENCES

1. Verma SK, Mahajan P, Singh NK. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective. *Frontiers in immunology.* 2023;14:1043109. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1043109

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

2. Facciolà A., Visalli G., Laganà A., Di Pietro A. An Overview of Vaccine Adjuvants: Current Evidence and Future Perspectives. *Vaccines (Basel)*. 2022. Vol. 10(5). 819 p. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines10050819
3. Apostólico J.S., Lunardelli V.A., Coirada F.C., Boscardin S.B., Rosa D.S. Adjuvants: Classification, Modus Operandi, and Licensing. *Journal of immunology research.* 2016. Vol. 2016. 1459394 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2016/1459394
4. Nabel G.J. Designing tomorrow's vaccines. *The New England journal of medicine.* 2013. Vol. 368(6). P. 551–560. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJMra1204186
5. Koff W.C., Burton D.R., Johnson P.R. et al. Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention. *Science*. 2013. Vol. 340(6136). 1232910 p. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1232910
6. He P., Zou Y., Hu Z. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism. *Human vaccines & immunotherapeutics.* 2015. Vol. 11(2). P. 477–488. DOI: https://doi.org/10.1080/21645515.2014.1004026
7. O'Hagan D.T., Valiante N.M. Recent advances in the discovery and delivery of vaccine adjuvants. *Nature reviews. Drug discovery*. 2003. Vol. 2(9). P. 727–735. DOI: https://doi.org/10.1038/nrd1176
8. Singh M., O'Hagan D.T. Recent advances in vaccine adjuvants. *Pharmaceutical research.* 2002. Vol. 19(6). P. 715–728. DOI: https://doi.org/10.1023/a:1016104910582
9. Pashine A., Valiante N.M., Ulmer J.B. Targeting the innate immune response with improved vaccine adjuvants. *Nature medicine*. 2005. Vol. 11(4). S63–S68. DOI: https://doi.org/10.1038/nm1210
10. Nanishi E., Dowling D.J., Levy O. Toward precision adjuvants: optimizing science and safety. *Current opinion in pediatrics.* 2020. Vol. 32(1). P. 125–138. DOI: https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000868
11. Wang G., Wang Y., Ma F. Exploiting bacterial-origin immunostimulants for improved vaccination and immunotherapy: current insights and future directions. *Cell & bioscience.* 2024. Vol. 14(1). 24 p. DOI: https://doi.org/10.1186/s13578-024-01207-7
12. Ramon G. Le principe des substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité a été posé il ya trente ans. *Vét.* 1955. Vol. 28. P. 337–340.
13. Ramon G. Procédé pour accroitre la production des antitoxines. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1926. Vol. 40. P. 1–10.
14. Ramon G. Sur la production des antitoxines. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences.* 1925 Vol. 181. P. 157–159.
15. Turley J.L., Lavelle E.C. Resolving adjuvant mode of action to enhance vaccine efficacy. *Current opinion in immunology.* 2022. Vol. 77. 102229 p. DOI: https ://doi.org/ 10.1016/j.coi.2022.102229
16. Zhao T., Cai Y., Jiang Y., He X., Wei Y., Yu Y., Tian X. Vaccine adjuvants: Mechanisms and platforms. *Signal transduction and targeted therapy.* 2023. Vol. 8. 283 p. DOI: https://doi.org/10.1038/s41392-023-01557-7
17. Chippaux J.P. Gaston Ramon's Big Four. *Toxins (Basel)*. 2024. Vol. 16(1). 33 p. DOI: https://doi.org/10.3390/toxins16010033
18. Christensen D. Vaccine adjuvants: Why and how. *Human vaccines & immunotherapeutics.* 2016. Vol. 12(10). P. 2709–2711. DOI: https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1219003
19. Coffman R.L., Sher A., Seder R.A. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity*. 2010. Vol. 33(4). P. 492–503. DOI: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.002
20. Pasquale A.D., Preiss S., Silva F., Garçon N. Vaccine adjuvants: from 1920 to 2015 and later. *Vaccines*. 2015. Vol. 3(2). P. 320–343. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines3020320
21. Glenny A.T., Pope C.G., Waddington H., Wallace U. Antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. T*he Journal of Pathology and Bacteriology*. 1926. Vol. 29. P. 38–45.
22. Glenny A.T., Pope C.G., Waddington H., Wallace U. Immunological notes. XVII. The antigenic value of the toxin-antitoxin precipitate of Ramon. *The Journal of pathology and bacteriology*. 1926. Vol. 29. P. 31–40. DOI: https://doi.org/10.1002/path.1700290106
23. Glenny A.T., Buttle G.A.H., Stevens M.F. Rate of disappearance of diphtheria toxoid injected into rabbits and guinea-pigs: Toxoid precipitated with alum. *The Journal of pathology and bacteriology.* 1931. Vol. 34. P. 267–275. DOI: https://doi.org/10.1002/path.1700340214
24. Goetz M., Thotathil N., Zhao Z., Mitragotri S. Vaccine adjuvants for infectious disease in the clinic. *Bioengineering & translational medicine.* 2024. Vol. 9(4). e10663 p. DOI: https://doi.org/10.1002/btm2.10663
25. Shi S., Zhu H., Xia X., Liang Z., Ma X., Sun B. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine*. 2019. Vol. 37(24). P. 3167–3178. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.04.055
26. Freund J., McDermott K. Sensitization to horse serum by means of adjuvants. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1942. Vol. 49. P. 548–553. DOI: https://doi.org/10.3181/00379727-49-13625
27. Biehl J.P., Vilter R.W. Proceedings of the society for experimental biology and medicine. *Nutrition reviews.* 1982. Vol. 40. P. 183–186. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1982.tb05303.x

2. Facciolà A, Visalli G, Laganà A, Di Pietro A. An Overview of Vaccine Adjuvants: Current Evidence and Future Perspectives. *Vaccines (Basel).* 2022;10(5):819. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines10050819
3. Apostólico JS, Lunardelli VA, Coirada FC, Boscardin SB, Rosa DS. Adjuvants: Classification, Modus Operandi, and Licensing. *Journal of immunology research.* 2016;2016:1459394. DOI: https://doi.org/10.1155/2016/1459394
4. Nabel GJ. Designing tomorrow's vaccines. *The New England journal of medicine.* 2013;368(6):551–60. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJMra1204186
5. Koff WC, Burton DR, Johnson PR, et al. Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention.*Science.* 2013;340(6136):1232910. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1232910
6. He P, Zou Y, Hu Z. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism. *Human vaccines & immunotherapeutics.* 2015;11(2):477–88. DOI: https://doi.org/10.1080/21645515.2014.1004026
7. O'Hagan DT, Valiante NM. Recent advances in the discovery and delivery of vaccine adjuvants. *Nature reviews. Drug discovery.* 2003;2(9):727–35. DOI: https://doi.org/10.1038/nrd1176
8. Singh M, O'Hagan DT. Recent advances in vaccine adjuvants. *Pharmaceutical research.* 2002;19(6):715–28. DOI: https://doi.org/10.1023/a:1016104910582
9. Pashine A, Valiante NM, Ulmer JB. Targeting the innate immune response with improved vaccine adjuvants. *Nature medicine.* 2005;11(4):S63–8. DOI: https://doi.org/10.1038/nm1210
10. Nanishi E, Dowling DJ, Levy O. Toward precision adjuvants: optimizing science and safety. *Current opinion in pediatrics.* 2020;32(1):125–38. DOI: https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000868
11. Wang G, Wang Y, Ma F. Exploiting bacterial-origin immunostimulants for improved vaccination and immunotherapy: current insights and future directions. *Cell & bioscience.* 2024;14(1):24. DOI: https://doi.org/10.1186/s13578-024-01207-7
12. Ramon G. The principle of adjuvant and immune-stimulating substances was established thirty years ago. *Vet.* 1955;28:337–40. [In French].
13. Ramon G. Process for increasing the production of antitoxins. *Annals of the Pasteur Institute.*1926;40:1–10. [In French].
14. Ramon G. On the production of antitoxins. Proceedings of the Academy of Sciences. 1925;181:157–9. [In French].
15. Turley JL, Lavelle EC. Resolving adjuvant mode of action to enhance vaccine efficacy. *Current opinion in immunology.* 2022;77:102229. DOI: https ://doi.org/ 10.1016/j.coi.2022.102229
16. Zhao T, Cai Y, Jiang Y, He X, Wei Y, Yu Y, Tian X. Vaccine adjuvants: Mechanisms and platforms. *Signal transduction and targeted therapy*. 2023;8:283. DOI: https://doi.org/10.1038/s41392-023-01557-7
17. Chippaux JP. Gaston Ramon's Big Four. *Toxins (Basel).* 2024;16(1):33. DOI: https://doi.org/10.3390/toxins16010033
18. Christensen D. Vaccine adjuvants: Why and how. *Human vaccines & immunotherapeutics.* 2016;12(10):2709–11. DOI: https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1219003
19. Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity*. 2010;33(4):492–503. DOI: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.002
20. Pasquale AD, Preiss S, Silva F, Garçon N. Vaccine adjuvants: from 1920 to 2015 and later. *Vaccines*. 2015;3(2):320–43. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines3020320
21. Glenny AT, Pope CG, Waddington H, Wallace U. Antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *The Journal of Pathology and Bacteriology.* 1926;29:38–45.
22. Glenny AT, Pope CG, Waddington H, Wallace U. Immunological notes. XVII. The antigenic value of the toxin-antitoxin precipitate of Ramon. *The Journal of pathology and bacteriology.* 1926;29:31–40. DOI: https://doi.org/10.1002/path.1700290106
23. Glenny AT, Buttle GAH, Stevens MF. Rate of disappearance of diphtheria toxoid injected into rabbits and guinea-pigs: Toxoid precipitated with alum. *The Journal of pathology and bacteriology.* 1931;34:267–75. DOI: https://doi.org/10.1002/path.1700340214
24. Goetz M, Thotathil N, Zhao Z, Mitragotri S. Vaccine adjuvants for infectious disease in the clinic. *Bioengineering & translational medicine*. 2024;9(4):e10663. DOI: https://doi.org/10.1002/btm2.10663
25. Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine.* 2019;37(24):3167–78. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.04.055
26. Freund J, McDermott K. Sensitization to horse serum by means of adjuvants. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 1942;49:548–53. DOI: https://doi.org/10.3181/00379727-49-13625
27. Biehl JP, Vilter RW. Proceedings of the society for experimental biology and medicine. *Nutrition reviews.* 1982;40:183–6. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1982.tb05303.x

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

28. Watad A., Bragazzi N.L., Shoenfeld Y. Immunologist's Little Dirty Secret Finger: A Case Report of Polyautoimmunity Following an Accidental Self-injection of Complete Freund's Adjuvant. *The Israel Medical Association journal.* 2020. Vol. 22(6). P. 393–394.
29. European Medicinal Agency (EMA) Nuvaxoid. *Summary of Product Characteristics.* URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nuvaxovid-epar-product-information_en.pdf
30. Chedid L. Adjuvants of immunity. Annales de l'Institut Pasteur. *Immunologie.* 1985. Vol. 136D(3). P. 283–291. DOI: https://doi.org/10.1016/s0769-2625(85)80113-6
31. Edelman R. The development and use of vaccine adjuvants. *Molecular biotechnology.* 2002. Vol. 21(2). P. 129–148. DOI: https://doi.org/10.1385/MB:21:2:129
32. Cox J.C., Coulter A.R. Adjuvants – a classification and review of their modes of action. *Vaccine*. 1997. Vol. 15(3). P. 248–256. DOI: https://doi.org/10.1016/s0264-410x(96)00183-1
33. Audibert F.M., Lise L.D. Adjuvants: current status, clinical perspectives and future prospects. *Immunology today.* 1993. Vol. 14(6). 281–284. DOI: https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90046-N
34. Pollard A.J., Bijker E.M. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nature reviews. Immunology.* 2021.Vol. 21(2). P. 83–100. DOI: https://doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7
35. Shah R.R., Hassett K.J., Brito L.A. Overview of Vaccine Adjuvants: Introduction, History, and Current Status. *Methods in molecular biology.* 2017. Vol. 1494. P. 1–13. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6445-1_1
36. Hassett K.J., Cousins M.C., Rabia L.A. Stabilization of a recombinant ricin toxin A subunit vaccine through lyophilization. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics.* 2013. Vol. 85(2). P. 279–286. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.03.029
37. Hogen E.H. Mechanisms of stimulation of the immune response by aluminum adjuvants. *Vaccine*. 2002. Vol. 20(3). P. S34– S39. DOI: https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00169-x
38. Reinke S., Thakur A., Gartlan C., Bezbradica J.S., Milicic A. Inflammasome-Mediated Immunogenicity of Clinical and Experimental Vaccine Adjuvants. *Vaccines (Basel)*. 2020. Vol. 8(3). 554 p. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines8030554
39. Guimarães L.E., Baker B., Perricone C., Shoenfeld Y. Vaccines, adjuvants and autoimmunity. *Pharmacological research*. 2015. Vol. 100. P. 190–209. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.003
40. Petkar K.C., Patil S.M., Chavhan S.S. An Overview of Nanocarrier-Based Adjuvants for Vaccine Delivery. *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13(4). 455 p. DOI: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040455
41. Peek L.J., Middaugh C.R., Berkland C. Nanotechnology in vaccine delivery. *Advanced drug delivery reviews.* 2008. Vol. 60(8). 915–928. DOI: https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.017
42. Levine M.M. Immunization against bacterial diseases of the intestine. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2000. Vol. 31(4). P. 336–355. DOI: https://doi.org/10.1097/00005176-200010000-00003
43. Kapikian A.Z., Hoshino Y., Chanock R.M., Perez-Schael I. Efficacy of a quadrivalent rhesus rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severe rotavirus diarrhea in infants and young children. *Journal of Infectious Diseases.* 1996. Vol. 174(1). P. S65– S72. DOI: https://doi.org/10.1093/infdis/174.supplement_1.s65
44. Belshe R.B., Mendelman P.M., Treanor J. The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenzavirus vaccine in children. *The New England Journal of Medicine.* 1998. Vol. 338(20). P. 1405–1412. DOI: https://doi.org/10.1056/nejm199805143382002
45. Savelkoul H., Ferro V., Strioga M., Schijns V. Choice and design of adjuvants for parenteral and mucosal vaccines. *Vaccines*. 2015. Vol. 3(1). P. 148–171. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines3010148
46. Awate S., Babiuk L.A., Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. *Frontiers in immunology.* 2013. Vol. 4. 114 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00114
47. Yang J.X., Tseng J.C., Yu G.Y. Recent Advances in the Development of Toll-like Receptor Agonist-Based Vaccine Adjuvants for Infectious Diseases. *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14(2). 423 p. DOI: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020423
48. Nanishi E., Dowling D.J., Levy O. Toward precision adjuvants: optimizing science and safety. *Current opinion in pediatrics*. 2020. Vol. 32(1). P. 125–138. DOI: https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000868
49. Galli G., Medini D., Borgogni E. Adjuvanted H5N1 vaccine induces early CD4+ T cell response that predicts long-term persistence of protective antibody levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009. Vol. 106(10). P. 3877–3882. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0813390106
50. Wilkins A.L., Kazmin D., Napolitani G. AS03- and MF59-Adjuvanted Influenza Vaccines in Children. *Frontiers in immunology*. 2017. Vol. 8. 1760 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01760
51. Garçon N., Vaughn D.W., Didierlaurent A.M. Development and evaluation of AS03, an Adjuvant System containing α-tocopherol and squalene in an oil-in-water emulsion. *Expert review of vaccines*. 2012. Vol. 11(3). P. 349–366. DOI: https://doi.org/10.1586/erv.11.192

28. Watad A, Bragazzi NL, Shoenfeld Y. Immunologist's Little Dirty Secret Finger: A Case Report of Polyautoimmunity Following an Accidental Self-injection of Complete Freund's Adjuvant. *The Israel Medical Association journal.* 2020;22(6):393–4.
29. European Medicinal Agency (EMA) Nuvaxoid. *Summary of Product Characteristics.* URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nuvaxovid-epar-product-information_en.pdf
30. Chedid L. Adjuvants of immunity. Annales de l'Institut Pasteur. *Immunologie.* 1985;136D(3):283–91. DOI: https://doi.org/10.1016/s0769-2625(85)80113-6
31. Edelman R. The development and use of vaccine adjuvants. *Molecular biotechnology.* 2002;21(2):129–48. DOI: https://doi.org/10.1385/MB:21:2:129
32. Cox JC, Coulter AR. Adjuvants – a classification and review of their modes of action. *Vaccine*. 1997;15(3):248–56. DOI: https://doi.org/10.1016/s0264-410x(96)00183-1
33. Audibert FM, Lise LD. Adjuvants: current status, clinical perspectives and future prospects. *Immunology today.* 1993;14(6):281–4. DOI: https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90046-N
34. Pollard AJ, Bijker EM. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nature reviews. Immunology.* 2021;21(2):83–100. DOI: https://doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7
35. Shah RR, Hassett KJ, Brito LA. Overview of Vaccine Adjuvants: Introduction, History, and Current Status. *Methods in molecular biology*. 2017;1494:1–13. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6445-1_1
36. Hassett KJ, Cousins MC, Rabia LA. Stabilization of a recombinant ricin toxin A subunit vaccine through lyophilization. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics.* 2013;85(2):279–86. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.03.029
37. Hogen EH. Mechanisms of stimulation of the immune response by aluminum adjuvants. *Vaccine*. 2002;20(3):S34–9. DOI: https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00169-x
38. Reinke S, Thakur A, Gartlan C, Bezbradica JS, Milicic A. Inflammasome-Mediated Immunogenicity of Clinical and Experimental Vaccine Adjuvants. *Vaccines* (Basel). 2020;8(3):554. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines8030554
39. Guimarães LE, Baker B, Perricone C, Shoenfeld Y. Vaccines, adjuvants and autoimmunity. *Pharmacological research.* 2015;100:190–209. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.003
40. Petkar KC, Patil SM, Chavhan SS. An Overview of Nanocarrier-Based Adjuvants for Vaccine Delivery. *Pharmaceutics*. 2021;13(4):455. DOI: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040455
41. Peek LJ, Middaugh CR, Berkland C. Nanotechnology in vaccine delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 2008;60(8):915–28. DOI: https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.017
42. Levine MM. Immunization against bacterial diseases of the intestine. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2000;31(4):336–55. DOI: https://doi.org/10.1097/00005176-200010000-00003
43. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM, Perez-Schael I. Efficacy of a quadrivalent rhesus rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severe rotavirus diarrhea in infants and young children. *Journal of Infectious Diseases.* 1996;174(1):S65–72. DOI: https://doi.org/10.1093/infdis/174.supplement_1.s65
44. Belshe RB, Mendelman PM, Treanor J. The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenzavirus vaccine in children. *The New England Journal of Medicine.* 1998;338(20):1405–12. DOI: https://doi.org/10.1056/nejm199805143382002
45. Savelkoul H, Ferro V, Strioga M, Schijns V. Choice and design of adjuvants for parenteral and mucosal vaccines. *Vaccines*. 2015;3(1):148–71. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines3010148
46. Awate S, Babiuk LA, Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. *Frontiers in immunology.* 2013;4:114. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00114
47. Yang JX, Tseng JC, Yu GY. Recent Advances in the Development of Toll-like Receptor Agonist-Based Vaccine Adjuvants for Infectious Diseases. *Pharmaceutics*. 2022;14(2):423. DOI: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020423
48. Nanishi E, Dowling DJ, Levy O. Toward precision adjuvants: optimizing science and safety. *Current opinion in pediatrics.* 2020;32(1):125–38. DOI: https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000868
49. Galli G, Medini D, Borgogni E. Adjuvanted H5N1 vaccine induces early CD4+ T cell response that predicts long-term persistence of protective antibody levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(10):3877–82. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0813390106
50. Wilkins AL, Kazmin D, Napolitani G. AS03- and MF59-Adjuvanted Influenza Vaccines in Children. *Frontiers in immunology.* 2017;8:1760. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01760
51. Garçon N, Vaughn DW, Didierlaurent AM. Development and evaluation of AS03, an Adjuvant System containing α-tocopherol and squalene in an oil-in-water emulsion. *Expert review of vaccines*. 2012;11(3):349–66. DOI: https://doi.org/10.1586/erv.11.192

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

52. Morel S., Didierlaurent A., Bourguignon P. Adjuvant System AS03 containing α-tocopherol modulates innate immune response and leads to improved adaptive immunity. *Vaccine*. 2011. Vol. 29(13). P. 2461–2473. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.01.011
53. Le Moignic EP. Emulsion vaccines in fatty substances or lipo-vaccines. *Expert review of vaccines.* 1916. Vol. 79. P. 201–203.
54. Lewis PA, Loomis D. Allergic irritability: The formation of anti-sheep hemolytic amboceptor in the normal and tuberculous guinea pig.503-. *The Journal of experimental medicine*. 1924. Vol. 40. 515 p. DOI: https://doi.org/10.1084/jem.40.4.503
55. Freund J., Casals J., Hosmer E.P. Sensitization and antibody formation after injection of tubercle bacilli and paraffin oil. *Experimental biology and medicine.* 1937. Vol. 37. P. 509–513. DOI: https://doi.org/10.3181/00379727-37-9625
56. Greenblatt C.L., Lathe R. Vaccines and Dementia: Part I. Non-Specific Immune Boosting with BCG: History, Ligands, and Receptors. *Journal of Alzheimer's disease.* 2024. Vol. 98(2). P. 343–360. DOI: https://doi.org/10.3233/JAD-231315
57. Ellouz F., Adam A., Ciorbaru R., Lederer E. Minimal structural requirements for adjuvant activity of bacterial peptidoglycan derivatives. *Biochemical and biophysical research communications*. 1974. Vol. 59. P. 1317–1325.
58. Ogawa C., Liu Y.J., Kobayashi K.S. Muramyl dipeptide and its derivatives: Peptide adjuvant in immunological disorders and cancer therapy. *Current bioactive compounds*. 2011. Vol. 7. P. 180–197. DOI: https://doi.org/10.2174/157340711796817913
59. Melssen M.M., Fisher C.T., Slingluff C.L., Melief C.J.M. Peptide emulsions in incomplete Freund's adjuvant create effective nurseries promoting egress of systemic CD4+ and CD8+ T cells for immunotherapy of cancer. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2022. Vol. 10(9). e004709 p. DOI: https://doi.org/10.1136/jitc-2022-004709
60. Salk J.E., Bailey M.L., Laurent A.M. The use of adjuvants in studies on influenza immunization. II. Increased antibody formation in human subjects inoculated with influenza virus vaccine in a water in-oil emulsion. *American journal of hygiene*. 1952. Vol. 55(3). P. 439–456. DOI: https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119534
61. Salk J.E., Laurent A.M., Bailey M.L. Direction of research on vaccination against influenza; new studies with immunologic adjuvants. *American journal of public health and the nation's health.* 1951. Vol. 41(6). P. 669–677. DOI: https://doi.org/10.2105/ajph.41.6.669
62. Perricone C., Shoenfeld Y. Mosaic of Autoimmunity – the Novel Factors of Autoimmune Diseases Revisited. *Harefuah*. 2020. Vol. 159(1). P. 57–60.
63. Гладких Ф.В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. *Вінниця: Твори*, 2022. 216 с. DOI: https://doi.org/10.46879/2022.1
64. Newbould B.B. Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *British journal of pharmacology and chemotherapy.* 1963. Vol. 21(1). P. 127–136. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1963.tb01508.x
65. Fletcher D.S., Widmer W.R., Luell S., Christen A., Orevillo C., Shah S., Visco D. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 1998. Vol. 284(2). P. 714–721.
66. Zhang J., Li P., Guo H.F., Liu L., Liu X.D. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of diclofenac in normal and Freund's complete adjuvant-induced arthritic rats. *Acta pharmacologica Sinica.* 2012. Vol. 33(11). P. 1372–1378. DOI: https://doi.org/10.1038/aps.2012.67
67. Noh A.S.M., Chuan T.D., Khir N.A.M. et al. Effects of different doses of complete Freund's adjuvant on nociceptive behaviour and inflammatory parameters in polyarthritic rat model mimicking rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2021. Vol. 16(12). e0260423 p. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260423
68. Nasuti C., Bordoni L., Fedeli D., Gabbianelli R. Effect of Nigella sativa Oil in a Rat Model of Adjuvant-Induced Arthritis. *Multidisciplinary Digital Institute Proceedings*. 2019. Vol. 11. 16 c.
69. Laste G., Souza I.C., Santos V.S., Caumo W., Torres I.L. Histopathological changes in three variations of Wistar Rat adjuvant-induced arthritis model. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014. Vol. 3. P. 780–790. DOI: https ://doi.org/10.13140/2.1.3260.5443
70. Ren K., Dubner R. Inflammatory models of pain and hyperalgesia. *Laboratory animal research*. 1999. Vol. 40(13). P. 111–118. DOI: https://doi.org/10.1093/ilar.40.3.111
71. Neugebauer V., Han J.S., Adwanikar H., Fu Y., Ji G. Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Molecular pain.* 2007. Vol. 3. P. 1744–8069. DOI: https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-8
72. Luo S., Li H., Liu J., Xie X., Wan Z., Wang Y. et al. Andrographolide ameliorates oxidative stress, inflammation and histological outcome in complete Freund's adjuvant-induced arthritis. *Chemico-biological interactions*. 2020. Vol. 319. P. 1–9.

52. Morel S, Didierlaurent A, Bourguignon P. Adjuvant System AS03 containing α-tocopherol modulates innate immune response and leads to improved adaptive immunity. *Vaccine*. 2011;29(13):2461–73. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.01.011
53. Le Moignic EP. Emulsion vaccines in fatty substances or lipo-vaccines. *Expert review of vaccines.* 1916;79:201–3. [In French].
54. Lewis PA, Loomis D. Allergic irritability: The formation of anti-sheep hemolytic amboceptor in the normal and tuberculous guinea pig.503-. *The Journal of experimental medicine.* 1924;40:515. DOI: https://doi.org/10.1084/jem.40.4.503
55. Freund J, Casals J, Hosmer EP. Sensitization and antibody formation after injection of tubercle bacilli and paraffin oil. *Experimental biology and medicine.* 1937;37:509–13. DOI: https://doi.org/10.3181/00379727-37-9625
56. Greenblatt CL, Lathe R. Vaccines and Dementia: Part I. Non-Specific Immune Boosting with BCG: History, Ligands, and Receptors. *Journal of Alzheimer's disease.* 2024;98(2):343–60. DOI: https://doi.org/10.3233/JAD-231315
57. Ellouz F, Adam A, Ciorbaru R, Lederer E. Minimal structural requirements for adjuvant activity of bacterial peptidoglycan derivatives. *Biochemical and biophysical research communications.* 1974;59:1317–25.
58. Ogawa C, Liu YJ, Kobayashi KS. Muramyl dipeptide and its derivatives: Peptide adjuvant in immunological disorders and cancer therapy. *Current bioactive compounds.* 2011;7:180–97. DOI: https://doi.org/10.2174/157340711796817913
59. Melssen MM, Fisher CT, Slingluff CL, Melief CJM. Peptide emulsions in incomplete Freund's adjuvant create effective nurseries promoting egress of systemic CD4+ and CD8+ T cells for immunotherapy of cancer. *Journal for immunotherapy of cancer.* 2022;10(9):e004709. DOI: https://doi.org/10.1136/jitc-2022-004709
60. Salk JE, Bailey ML, Laurent AM. The use of adjuvants in studies on influenza immunization. II. Increased antibody formation in human subjects inoculated with influenza virus vaccine in a water in-oil emulsion. *American journal of hygiene.* 1952;55(3):439–56. DOI: https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119534
61. Salk JE, Laurent AM, Bailey ML. Direction of research on vaccination against influenza; new studies with immunologic adjuvants. *American journal of public health and the nation's health.* 1951;41(6):669–77. DOI: https://doi.org/10.2105/ajph.41.6.669
62. Perricone C, Shoenfeld Y. Mosaic of Autoimmunity – the Novel Factors of Autoimmune Diseases Revisited. *Harefuah*. 2020;159(1):57–60.
63. Hladkykh FV. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic and undesirable effects, ways of their optimization. *Vinnytsia: Works,* 2022;216. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.46879/2022.1
64. Newbould BB. Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *British journal of pharmacology and chemotherapy.* 1963;21(1):127–36. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1963.tb01508.x
65. Fletcher DS, Widmer WR, Luell S, Christen A, Orevillo C, Shah S, Visco D. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 1998;284(2):714–21.
66. Zhang J, Li P, Guo HF, Liu L, Liu XD. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of diclofenac in normal and Freund's complete adjuvant-induced arthritic rats. *Acta pharmacologica Sinica*. 2012;33(11):1372–8. DOI: https://doi.org/10.1038/aps.2012.67
67. Noh ASM, Chuan TD, Khir NAM, et al. Effects of different doses of complete Freund's adjuvant on nociceptive behaviour and inflammatory parameters in polyarthritic rat model mimicking rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2021;16(12):e0260423. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260423
68. Nasuti C, Bordoni L, Fedeli D, Gabbianelli R. Effect of Nigella sativa Oil in a Rat Model of Adjuvant-Induced Arthritis. *Multidisciplinary Digital Institute Proceedings.* 2019;11:16.
69. Laste G, Souza IC, Santos VS, Caumo W, Torres IL. Histopathological changes in three variations of Wistar Rat adjuvant-induced arthritis model. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2014;3:780–90. DOI: https ://doi.org/10.13140/2.1.3260.5443
70. Ren K, Dubner R. Inflammatory models of pain and hyperalgesia. *Laboratory animal research.* 1999;40(13):111–8. DOI: https://doi.org/10.1093/ilar.40.3.111
71. Neugebauer V, Han JS, Adwanikar H, Fu Y, Ji G. Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Molecular pain.* 2007;3:1744–8069. DOI: https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-8
72. Luo S, Li H, Liu J, Xie X, Wan Z, Wang Y, et al. Andrographolide ameliorates oxidative stress, inflammation and histological outcome in complete Freund's adjuvant-induced arthritis. *Chemico-biological interactions.* 2020;319:1–9.

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

73. Pearson C., Wood F.D. Studies of polyarthritis and other lesions in rats by injection of mycobacterial adjuvant. I. General clinical and pathological characteristics and some modifying factors. *Arthritis and rheumatism.* 1959. Vol. 2(5). P. 440–459.
74. Szekanecz Z., Halloran M.M., Volin M.V., Woods J.M., Strieter R.M., Haines G.KIII. et al. Temporal expression of inflammatory cytokines and chemokines in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis and rheumatism.* 2000. Vol. 43(6). P. 1266–1277. DOI: https://doi.org/10.1002/1529-0131(200006)43:6<1266::AID-ANR9>3.0.CO;2-P
75. Suke S.G., Harsh N., Mediratta P.K., Banerjee B.D., Sharma K.K. Anti-arthritic and anti-inflammatory activity of combined pioglitazone and prednisolone on adjuvant-induced arthritis. *European journal of pharmacology.* 2013. Vol. 718. P. 57–62. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.019
76. Biliau A., Matthys P. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *Journal of leukocyte biology*. 2001. Vol. 70. P. 849–860.
77 Kai H., Shibuya K., Wang Y., Kameta H., Kameyama T., Tahara-Hanaoka S. et al. Critical role of M. tuberculosis for dendritic cell maturation to induce collagen-induced arthritis in H-2b background of C57BL/6 mice. *Immunology*. 2006. Vol. 118. P. 233–239. DOI: https ://doi.org/ 10.1111/j.1365-2567.2006.02361.x
78. Djuichou N.S.F., Tsafack E.G., Mbiantcha M., Ateufack G., Donatien A.A., Yousseu N.W. et al. In vitro anti-inflammatory and in vivo anti-arthritic activities of aqueous and ethanolic extracts of Dissotis thollonii cogn. (melastomataceae) in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019. Vol. 2019. 3612481 p. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/3612481
79. Zingoni A., Molfetta R., Fionda C., Soriani A., Paolini R., Cippitelli M. et al. NKG2D and its ligands: «one for all, all for one». *Frontiers in immunology.* 2018. Vol. 9. 476 p. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00476
80. De Castro C.M., De Sutter P., Gybels J., Van Hees J. Adjuvant-induced arthritis in rats: a possible animal model of chronic pain. *Pain*. 1981. Vol. 10(2). P. 173–185. DOI: https://doi.org/10.1016/0304-3959(81)90193-7
81. Zhang W., Lyu J., Xu J. The related mechanism of complete Freund's adjuvant-induced chronic inflammation pain based on metabolomics analysis. *Biomedical chromatography.* 2021. Vol. 35(4). e5020 p. DOI: https://doi.org/10.1002/bmc.5020
82. Babaahmadi M., Makvand Gholipour N., Tayebi B., Pheneger J., Hajizadeh-Saffar E., Baghaban Eslaminejad M., Hassani S.N. Clinical Evaluation of Collagen-Induced Arthritis in Female Lewis Rats: A Comprehensive Analysis of Disease Progression and Severity. *Cell Journal.* 2023. Vol. 25(12). P. 854–862. DOI: https://doi.org/10.22074/cellj.2023.2004504.1326
83. Gangaplara A., Massilamany C., Lasrado N., Steffen D., Reddy J. Evidence for Anti-Viral Effects of Complete Freund's Adjuvant in the Mouse Model of Enterovirus Infection. *Vaccines (Basel)*. 20207. Vol. 8(3). 364 p. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines8030364
84. Lasrado N., Gangaplara A., Arumugam R., Massilamany C., Pokal S., Zhou Y. Identification of Immunogenic Epitopes That Permit the Detection of Antigen-Specific T Cell Responses in Multiple Serotypes of Group B Coxsackievirus Infections. *Viruses*. 2020. Vol. 12(3). 347 p. DOI: https://doi.org/10.3390/v12030347
85. Opie E.L., Freund J. An experimental study of protective inoculation with hea. *The Journal of experimental medicine*. 1937. Vol. 66(6). P. 761–788. DOI: https://doi.org/10.1084/jem.66.6.761
86. Kment A., Hofecker G., Niedermüller H., Dreier H.K. Specific incorporation of labelled tissue homogenates into the homologous organs of the rat. *Arzneimittelforschung*. 1976. Vol. 26(11). P. 2043–2046.
87. Степанова Т.Ю. Ефективність та деякі механізми дії аміксину за експериментального алергічного енцефаломієліту: дис. … к. біол. н.: спец. 14.03.05. 2013. 155 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0413U002176/
88. Pivneva T.A. Mechanisms underlying the process of demyelination in multiple sclerosis. *Neurophysiology*. 2009. Vol. 5. P. 365–373. DOI: https://doi.org/10.1007/s11062-010-9114-z
89. Нефьодов О.О. Фармакологічний аналіз нейропротекції за умов експериментального алергічного енцефаломієліту: дис. … д. мед. н.: спец. 14.03.05. 2017. 373 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0517U000776/
90. Lassmann H. Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair. *Current Opinion in Neurology.* 2008. Vol. 21(3). P. 242–247. DOI: https://doi.org/10.1097/wco.0b013e3282fee94a
91. Boccaccio G.L., Steinman L. Multiple sclerosis: from a myelin point of view. *Journal of Neuroscience Research.* 1996. Vol. 45(6). P. 647–654. DOI: https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547
92. Kalman B., Lublin F.D. Immunotherapy in neuroimmunologic diseases. *London: Martin Dunitz*, 1998.
93. Ransohoff R.M. Chemokines in neurological disease models: correlation between chemokine expression patterns and inflammatory pathology. *Journal of Leukocyte Biology*. 1997. Vol. 62(5). P. 645–652. DOI: https://doi.org/10.1002/jlb.62.5.645

73. Pearson C, Wood FD. Studies of polyarthritis and other lesions in rats by injection of mycobacterial adjuvant. I. General clinical and pathological characteristics and some modifying factors. *Arthritis and rheumatism*. 1959;2(5):440–59.
74. Szekanecz Z, Halloran MM, Volin MV, Woods JM, Strieter RM, Haines GKIII, et al. Temporal expression of inflammatory cytokines and chemokines in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis and rheumatism.* 2000;43(6):1266–77. DOI: https://doi.org/10.1002/1529-0131(200006)43:6<1266::AID-ANR9>3.0.CO;2-P
75. Suke SG, Harsh N, Mediratta PK, Banerjee BD, Sharma KK. Anti-arthritic and anti-inflammatory activity of combined pioglitazone and prednisolone on adjuvant-induced arthritis. *European journal of pharmacology.* 2013;718:57–62. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.019
76. Biliau A, Matthys P. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *Journal of leukocyte biology*. 2001;70:849–60.
77. Kai H, Shibuya K, Wang Y, Kameta H, Kameyama T, T ahara-Hanaoka S, et al. Critical role of M. tuberculosis for dendritic cell maturation to induce collagen-induced arthritis in H-2b background of C57BL/6 mice. *Immunology*. 2006;118:233–39. DOI: https ://doi.org/ 10.1111/j.1365-2567.2006.02361.x
78. Djuichou NSF, Tsafack EG, Mbiantcha M, Ateufack G, Donatien AA, Yousseu NW, et al. In vitro anti-inflammatory and in vivo anti-arthritic activities of aqueous and ethanolic extracts of Dissotis thollonii cogn. (melastomataceae) in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2019;2019:3612481. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/3612481
79. Zingoni A, Molfetta R, Fionda C, Soriani A, Paolini R, Cippitelli M, et al. NKG2D and its ligands: «one for all, all for one». *Frontiers in immunology.* 2018;9:476. DOI: https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00476
80. De Castro CM, De Sutter P, Gybels J, Van Hees J. Adjuvant-induced arthritis in rats: a possible animal model of chronic pain. *Pain.* 1981;10(2):173–85. DOI: https://doi.org/10.1016/0304-3959(81)90193-7
81. Zhang W, Lyu J, Xu J. The related mechanism of complete Freund's adjuvant-induced chronic inflammation pain based on metabolomics analysis. *Biomedical chromatography*. 2021;35(4):e5020. DOI: https://doi.org/10.1002/bmc.5020
82. Babaahmadi M, Makvand Gholipour N, Tayebi B, Pheneger J, Hajizadeh-Saffar E, Baghaban Eslaminejad M, Hassani SN. Clinical Evaluation of Collagen-Induced Arthritis in Female Lewis Rats: A Comprehensive Analysis of Disease Progression and Severity. *Cell Journal.* 2023;25(12):854–62. DOI: https://doi.org/10.22074/cellj.2023.2004504.1326
83 Gangaplara A, Massilamany C, Lasrado N, Steffen D, Reddy J. Evidence for Anti-Viral Effects of Complete Freund's Adjuvant in the Mouse Model of Enterovirus Infection. *Vaccines (Basel).* 20207;8(3):364. DOI: https://doi.org/10.3390/vaccines8030364
84. Lasrado N, Gangaplara A, Arumugam R, Massilamany C, Pokal S, Zhou Y. Identification of Immunogenic Epitopes That Permit the Detection of Antigen-Specific T Cell Responses in Multiple Serotypes of Group B Coxsackievirus Infections. *Viruses*. 2020;12(3):347. DOI: https://doi.org/10.3390/v12030347
85. Opie EL, Freund J. An experimental study of protective inoculation with hea. *The Journal of experimental medicine*. 1937;66(6):761–88. DOI: https://doi.org/10.1084/jem.66.6.761
86. Kment A, Hofecker G, Niedermüller H, Dreier HK. Specific incorporation of labelled tissue homogenates into the homologous organs of the rat. *Arzneimittelforschung*. 1976;26(11):2043–6.
87. Stepanova T. Effectiveness and some mechanisms of action of amiksin in experimental allergic encephalomyelitis [dissertation]. 14.03.05. 2013;155. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0413U002176/
88. Pivneva TA. Mechanisms underlying the process of demyelination in multiple sclerosis. *Neurophysiology*. 2009;5:365–73. DOI: https://doi.org/10.1007/s11062-010-9114-z
89. Nefyodov OO. Pharmacological analysis of neuroprotection under conditions of experimental allergic encephalomyelitis [dissertation]. 14.03.05. 2017;373. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0517U000776/
90. Lassmann H. Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair. *Current Opinion in Neurology.* 2008;21(3):242–7. DOI: https://doi.org/10.1097/wco.0b013e3282fee94a
91. Boccaccio GL, Steinman L. Multiple sclerosis: from a myelin point of view. *Journal of Neuroscience Research.* 1996;45(6):647–54. DOI: https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547
92. Kalman B, Lublin FD. Immunotherapy in neuroimmunologic diseases. *London: Martin Dunitz*, 1998.
93. Ransohoff RM. Chemokines in neurological disease models: correlation between chemokine expression patterns and inflammatory pathology. *Journal of Leukocyte Biology.* 1997;62(5):645–52. DOI: https://doi.org/10.1002/jlb.62.5.645

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

94. Ding M., Zhang M., Wong J.L., Rogers N.E., Ignarro L.J., Voskuhl R.R. Antisense knockdown of inducible nitric oxide synthase inhibits induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice. *Journal of Immunology*. 1998. Vol. 160(6). P. 2560–2564.
95. Pender M.P. Demyelination and neurological signs in experimental allergic encephalomyelitis. Journal of Neuroimmunology. 1987. Vol. 15(1). P. 11–24. DOI: https://doi.org/10.1016/0165-5728(87)90003-8
96. Нефьодов О.О., Мамчур В.Й., Харченко В.Ю. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 4(114). С. 205–208. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2014_4%282%29__46
97. Нефьодов О.О., М'ясоєд Ю.П., Соломенко М.В., Великородна-Танасійчук О.В., Баклунов В.В., Адегова Л.Я., Чиркін В.І., Демиденко Ю.В. Ефективність моделювання експериментального алергічного енцефаломієліту як експериментальної моделі розсіяного склерозу. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2021. № 6(34). С. 57–65. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ujmbs_2021_6_6_8
98. Лисяний Н.І., Маркова О.В., Горобець О.Б., Семенова В.М., Бєльська Л.М. Функціональний стан імунокомпетентних клітин у селезінці та головному мозку щурів після індукції експериментального алергічного енцефаломієліту. *Імунологія та алергологія.* 1998. № 1. С. 98–103.
99. Гладких Д.П. Теоретичне й експериментальне моделювання лікувальної дії нативних і кріоконсервованих продуктів фетоплацентарного комплексу при автоімунному тиреоїдиті: дис. … к. мед. н.: спец. 14.01.35. Харків, 2010. 125 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0410U005278/
100. Курилко Ю.С. Експериментальне визначення впливу біопрепарату кордової крові на функціональну активність щитоподібної залози та імунну систему у щурів за умов моделювання автоімунного тиреоїдиту. Харків, 2024. 189 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0823U101476/
101. Курилко Ю.С., Малова Н.Г., Сиротенко Л.А. Тиреоїдна функція щурів з експериментальним АІТ на ранньому терміні після введення біопрепарату кордової крові. *Проблеми ендокринної патології.* 2021. № 78(4). С. 104–109. DOI: https://doi.org/10.21856/j-PEP.2021.4.1
102. Pavlenko H.P. Free radical, antioxidant, and hemocoagulation processes are normal in experimental heart pathology and their limitation by a peptide bioregulator. Dissertation abstract. Kharkiv. 1993. 20 p.
103. Fontes J.A., Barin J.G., Talor M.V., Stickel N., Schaub J., Rose N.R., Cihakova D. Complete Freund`s adjuvant induces experimental autoimmune myocarditis by enhancing IL-6 production during initiation of the immune response. *Immunity, Inflammation and Disease*. 2017. Vol. 5(2). P. 163–176. DOI: https://doi.org/10.1002/iid3.155
104. Root-Bernstein R., Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology.* 2015. Vol. 375. P. 101–123. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022
105. Heymann W., Kmetec E.P., Wilson S.G., Hunter J.L., Hackel D.B., Okuda R., Cuppage F. Experimental autoimmune renal disease in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1965. Vol. 124(1). P. 310–322. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb18966.x
106. Шебеко С.К. Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування похідних аміноцукрів та флавоноїдів в терапії хронічної хвороби нирок: дис. … д. фарм. н.: спец. 14.03.05. Харків. 2017. 516 с. URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0521U100125/
107. Deepthi R., Suhasin G. A review on animal models of chronic kidney disease – an update. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2023. Vol.16(3). P. 1319–1327. DOI: https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2711
108. Mohammed-Ali Z., Carlisle R.E., Nademi S., Dickhout J.G. Animal Models of Kidney. *Disease*. 2017. Vol. 16. P. 379–417. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00016-4
109. Jefferson J.A., Pippin J.W., Shankland S.J. Experimental models of membranous nephropathy. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2010. Vol. 7(1–2). P. 27–33. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2010.11.001
110. Becker G.J., Hewitson T.D. Animal models of chronic kidney disease: useful but not perfect. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013. Vol. 28(10). P. 2432–2438. DOI: https://doi.org/10.1093/ndt/gft071
111. Wang Y.M., Lee V.W.S., Wu H., Harris D.C.H., Alexander S.I. Heymann nephritis in Lewis rats. *Current Protocols in Immunology*. 2015. Vol. 109. P. 1–6. DOI: https://doi.org/10.1002/0471142735.im1529s109
112. Штриголь С.Ю., Лісовий В.М., Зупанець І.А., Шебеко С.К., Маслова Н.Ф., Гоженко А.І., Харченко Д.С. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень. *Методичні рекомендації.* Харків: НФаУ, 2009. 48 с.
113. Pusey C.D., Holland M.J., Cashman S.J., Sinico R.A., Lloveras J.J., Evans D.J., Lockwood C.M. Experimental autoimmune glomerulonephritis induced by homologous and isologous glomerular basement membrane in Brown-Norway rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1991. Vol. 6(7). P. 457–465. DOI: https://doi.org/10.1093/ndt/6.7.457

94. Ding M, Zhang M, Wong JL, Rogers NE, Ignarro LJ, Voskuhl RR. Antisense knockdown of inducible nitric oxide synthase inhibits induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice. *Journal of Immunology*. 1998;160(6):2560–4.
95. Pender MP. Demyelination and neurological signs in experimental allergic encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology.* 1987;15(1):11–24. DOI: https://doi.org/10.1016/0165-5728(87)90003-8
96. Nefyodov OO, Mamchur VY, Kharchenko VY. Modeling and assessment of the course of experimental allergic encephalomyelitis. *Herald of problems of biology and medicine.* 2014;4(114):205–8. (In Ukrainian). URL : http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2014_4%282%29__46
97. Nefyodov OO, Myasoed YuP, Solomenko MV, Velikorodna-Tanasiichuk OV, Baklunov VV, Adegova LY, Chirkin VI, Demydenko YuV. Effectiveness of modeling experimental allergic encephalomyelitis as an experimental model of multiple sclerosis. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports.* 2021;6(34):57–65. (In Ukrainian). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ujmbs_2021_6_6_8
98. Lysyanyi NI, Markova OV, Gorobets OB, Semenova VM, Belska LM. Functional status of immunocompetent cells in the spleen and brain of rats after induction of experimental allergic encephalomyelitis. *Immunology and allergology.* 1998;1:98–103. (In Ukrainian).
99. Hladkykh DP. Theoretical and experimental modeling of the therapeutic effect of native and cryopreserved products of the fetoplacental complex in autoimmune thyroiditis [dissertation]. 14.01.35. Kharkiv. 2010;125. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0410U005278/
100. Kurylko YS. Experimental determination of the effect of cord blood biological preparation on the functional activity of the thyroid gland and the immune system in rats under the conditions of modeling autoimmune thyroiditis. Kharkiv. 2024;189. (In Ukrainian). URL: https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0823U101476/
101. Kurylko YuS, Malova NG, Syrotenko LA. Thyroid function of rats with experimental AIT in the early period after administration of cord blood biological preparation. *Problems of endocrine pathology.* 2021;78(4):104–9. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.21856/j-PEP.2021.4.1
102. Pavlenko HP. Free radical, antioxidant, and hemocoagulation processes are normal in experimental heart pathology and their limitation by a peptide bioregulator. Dissertation abstract. Kharkiv. 1993;20.
103. Fontes JA, Barin JG, Talor MV, Stickel N, Schaub J, Rose NR, Cihakova D. Complete Freund`s adjuvant induces experimental autoimmune myocarditis by enhancing IL-6 production during initiation of the immune response. *Immunity, Inflammation and Disease.* 2017;5(2):163–76. DOI: https://doi.org/10.1002/iid3.155
104. Root-Bernstein R, Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology.* 2015;375:101–23. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.11.022
105. Heymann W, Kmetec EP, Wilson SG, Hunter JL, Hackel DB, Okuda R, Cuppage F. Experimental autoimmune renal disease in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1965;124(1):310–22. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb18966.x
106. Shebeko SC. Experimental substantiation of the combined use of amino sugar derivatives and flavonoids in the therapy of chronic kidney disease [dissertation]. 14.03.05. Kharkiv. 2017;516. (In Ukrainian). URL : https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0521U100125/
107. Deepthi R, Suhasin G. A review on animal models of chronic kidney disease – an update. *Biomedical and Pharmacology Journa*l. 2023;16(3):1319–27. DOI: https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2711
108. Mohammed-Ali Z, Carlisle RE, Nademi S, Dickhout JG. Animal Models of Kidney. Disease. 2017;16:379–417. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00016-4
109. Jefferson JA, Pippin JW, Shankland SJ. Experimental models of membranous nephropathy. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2010;7(1–2):27–33. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2010.11.001
110. Becker GJ, Hewitson TD. Animal models of chronic kidney disease: useful but not perfect. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013;28(10):2432–8. DOI: https://doi.org/10.1093/ndt/gft071
111. Wang YM, Lee VWS, Wu H, Harris DCH, Alexander SI. Heymann nephritis in Lewis rats. *Current Protocols in Immunology*. 2015;109:1–6. DOI: https://doi.org/10.1002/0471142735.im1529s109
112. Shtrigol SU, Lisovy VM, Zupanets IA, Shebeko SK, Maslova NF, Hozhenko AI, Kharchenko DS. Methods of experimental modeling of kidney damage for pharmacological studies. *Methodical recommendations*. Kharkiv: NFaU. 2009;48. (In Ukrainian).
113. Pusey CD, Holland MJ, Cashman SJ, Sinico RA, Lloveras JJ, Evans DJ, Lockwood CM. Experimental autoimmune glomerulonephritis induced by homologous and isologous glomerular basement membrane in Brown-Norway rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1991;6(7):457–65. DOI: https://doi.org/10.1093/ndt/6.7.457

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

114. Kohda H., Sekiya C., Kanai M., Yoshida Y., Uede T., Kikuchi K., Namiki M. Flow cytometric and functional analysis of mononuclear cells infiltrating the liver in experimental autoimmune hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology.* 1990. Vol. 82(3). P. 473–478. DOI: http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb05474.x

114. Kohda H, Sekiya C, Kanai M, Yoshida Y, Uede T, Kikuchi K, Namiki M. Flow cytometric and functional analysis of mononuclear cells infiltrating the liver in experimental autoimmune hepatitis. *Clinical and Experimental Immunology.* 1990;82(3):473–8. DOI: http://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1990.tb05474.x

Перспективи подальших досліджень

Узагальнені відомості про вакцинальні ад'юванти вказують на актуальність пошуку нових сполук, які можуть бути використані у створенні інноваційних вакцин. Відомості про експериментальні моделі аутоімунних захворювань на основі повного ад'юванту Фрейнда стануть у нагоді широкому колу дослідників – імунологів, фармакологів, патофізіологів, патоморфологів та ін.

Prospects for further research

General information about vaccine adjuvants highlights the relevance of searching for new compounds that can be used in the development of innovative vaccines. Information on experimental models of autoimmune diseases based on Freund's complete adjuvant will be useful for a wide range of researchers – immunologists, pharmacologists, pathophysiologists, pathomorphologists, and others.

Конфлікт інтересів

Автор рукопису свідомо засвідчує 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 declares the absence of any actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, or other organizations whose products, services, or financial support m

Інформація про фінансування

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.

Funding information

The article is a fragment of a planned research project by the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology at 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 Viral-Bacterial Associations in Acute, Prolonged, and Chronic Disease Courses and Improving Treatment Tactics», state registration number 0123U105022, duration: 2023–2028, head of the department – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobueva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

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: *ідея огляду, підбір літературних джерел, аналіз та узагальнення даних, написання тексту статті.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

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 State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
tel.: +38 (099) 782-78-72
Author's contribution: *review idea, selection of literary sources, analysis and summarization of data, writing the text of the article.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 06.06.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 15.08.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 12.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 440–450
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):440–450

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-11
УДК: 614.2+336.14:614+339.13.012:614.2

CC BY
OPEN ACCESS

Роль охорони здоров'я України на світовому ринку медичних послуг: чинники зростання в умовах глобалізації

Камінська Т.М.[1], https://orcid.org/0000-0003-1359-834X, e-mail: kamtm@ukr.net
Олексюк О.Б.[2], https://orcid.org/0000-0002-6150-9033, e-mail: o.oleksiuk@meduniv.lviv.ua
Коморовський Р.Р.[3], https://orcid.org/0000-0002-0288-4132, e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
Гладких Ф.В.[4,5], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

[1]Національний юридичний університет імені Ярослава Мудрого Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[2]Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького Міністерства охорони здоров'я України, Львів, Україна
[3]Тернопільський національний медичний університет імені Івана Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, Тернопіль, Україна
[4]Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
[5]Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

The role of Ukrainian healthcare in the global market of medical services: growth factors in the context of globalization

Kaminska T.M.[1], https://orcid.org/0000-0003-1359-834X, e-mail: kamtm@ukr.net
Oleksiuk O.B.[2], https://orcid.org/0000-0002-6150-9033, e-mail: o.oleksiuk@meduniv.lviv.ua
Komorovsky R.R.[3], https://orcid.org/0000-0002-0288-4132, e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
Hladkykh F.V.[4,5], https://orcid.org/0000-0001-7924-4048, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

[1]Yaroslav Mudryi National Law University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, Ukraine
[3]Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine
[4]V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[5]State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

охорона здоров'я України, світові медичні послуги, економічний розвиток, міжнародні пацієнти, глобалізація, медичний туризм.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Повоєнне відновлення України потребує стрімкого економічного та соціального розвитку, зокрема в сфері охорони здоров'я. Якість життя та активна участь у суспільстві значною мірою залежать від міцного здоров'я, особливо для громадян, які зазнали фізичних та психологічних травм через російську агресію.

Мета роботи – дослідити потенціал експорту медичних послуг з України та приваблення міжнародних пацієнтів.

Матеріали та методи. Огляд літератури щодо розвитку світових медичних послуг та ринків охорони здоров'я; аналіз статистичних даних про стан і можливості сектора охорони здоров'я України; вивчення найкращих практик інших країн у галузі медичного туризму; оцінка економічних показників та їх кореляція зі зростанням міжнародних медичних послуг.

Результати та їх обговорення. Дослідження показує, що Україна має значний потенціал для розвитку міжнародних медичних послуг. Цей потенціал зумовлений високою кваліфікацією українських лікарів, відносно низькою вартістю медичних послуг і наявністю сучасних медичних технологій у деяких лікарнях. Сприяння розвитку міжнародних медичних послуг може залучити іноземні

Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.
Серія Медицина. 2024. Т. 32. № 3(50). С. 440–450
The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University.
Series Medicine. 2024;32(3(50)):440–450

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Для кореспонденції:

Коморовський Роман Ростиславович
Тернопільський національний медичний університет ім. Івана Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, кафедра внутрішньої медицини № 2;
майдан Волі, буд. 1, м. Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua

© *Камінська Т.М., Олексюк О.Б., Коморовський Р.Р., Гладких Ф.В., 2024*

інвестиції, підвищити якість медичних послуг і принести значні економічні вигоди. Приплив міжнародних пацієнтів генерує експортні надходження, що сприяє державному бюджету та балансуванню національної платіжної системи. Проте для повної реалізації цього потенціалу необхідно подолати такі виклики, як покращення інфраструктури, забезпечення міжнародної акредитації та ефективний маркетинг.
Висновки. Розвиток міжнародних медичних послуг в Україні може значно покращити національну економіку та систему охорони здоров'я. Стратегічний фокус на цей сектор може принести такі вигоди, як підвищення якості медичних послуг, збільшення іноземних інвестицій та значні економічні повернення. Для успіху важливо подолати існуючі виклики та використати сильні сторони країни у сфері охорони здоров'я.

Для цитування:

Камінська Т.М., Олексюк О.Б., Коморовський Р.Р., Гладких Ф.В. Роль охорони здоров'я України на світовому ринку медичних послуг: чинники зростання в умовах глобалізації. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2024. Т. 32. № 3(50). С. 440–450. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-11

Key words:

Ukrainian healthcare, global medical services, economic development, international patients, globalization, medical tourism.

For correspondence:

Komorovsky Roman Rostyslavovych
Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Internal Medicine № 2;
1 Majdan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua

© *Kaminska T.M., Oleksiuk O.B., Komorovsky R.R., Hladkykh F.V., 2024*

ABSTRACT

Background. Post-war recovery in Ukraine necessitates rapid economic and social development, including in the healthcare sector. The quality of life and active participation in society are highly dependent on robust health, especially for citizens affected by physical and psychological trauma due to the russian aggression.
Purpose – to explore the potential for exporting medical services from Ukraine and attracting international patients.
Materials and Methods. Review of the literature on the development of global medical services and healthcare markets; analysis of statistical data on the state and capabilities of Ukraine's healthcare sector; study of best practices from other countries in the field of medical tourism; assessment of economic indicators and their correlation with the growth of international medical services.
Results. The study reveals that Ukraine has significant potential to develop its international medical services sector. This potential is driven by the high qualifications of Ukrainian doctors, the relatively low cost of medical services, and the availability of advanced medical technologies in some hospitals. Promoting international medical services can attract foreign investment, enhance the quality of healthcare, and generate substantial economic benefits. The influx of international patients would generate export revenues, contributing to the state budget and balancing the national payment system. However, challenges such as infrastructure improvements, international accreditation, and effective marketing need to be addressed to fully realize this potential.
Conclusions. Developing international medical services in Ukraine can significantly enhance the national economy and healthcare system. Strategic focus on this sector can yield benefits like improved healthcare quality, increased foreign investment, and significant economic returns. Addressing challenges and leveraging the country's strengths in healthcare are essential for success.

For citation:

Kaminska TM, Oleksiuk OB, Komorovsky RR, Hladkykh FV. The role of Ukrainian healthcare in the global market of medical services: growth factors in the context of globalization. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2024;32(3(50)):440–450. DOI: https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-11

ВСТУП

Повоєнне відновлення України потребуватиме стрімкого економічного і соціального розвитку, зокрема охорони здоров'я. Його роль загальновідома: висока якість життя людини та активна діяльність неможливі без міцного здоров'я. Тим більше йдеться про громадян, які отримали фізичні та/або психологічні травми під час російської агресії [1]. Разом з тим, не менш важливим є інший та найперспективніший бік розвиненої охорони здоров'я, а саме експорт

INTRODUCTION

The post-war recovery of Ukraine will necessitate rapid economic and social development, particularly in healthcare. Its role is well-known: high quality of life and active engagement are impossible without robust health. This is especially true for citizens who have suffered physical and/or psychological trauma during the russian aggression [1]. The prospect of exporting medical services from Ukraine to attract foreign patients is equally important. Although this idea may currently

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

з України медичних послуг, приваблення іноземних пацієнтів. Сьогодні це ще звучить фантастично, але приклади довоєнних часів свідчать про велику вірогідність і потенціал надання в Україні міжнародних медичних послуг [2].

Медичний туризм – це мультидисциплінарна сфера економіки, яка поєднує охорону здоров'я та туристичну індустрію, і при цьому стрімко розвивається: пацієнти все частіше подорожують по всьому світу для отримання медичних послуг [3]. Водночас медичний туризм сприяє зростанню кваліфікації лікарів та їх доходів е місцях призначень (у даному контесті – українських лікарів), іноземним інвестиціям до лікарень третинного сектора медицини, зміцненню приватних клінік, а також збільшенню експортних надходжень до державного бюджету, вирівнюванню платіжного балансу країни. Тобто, міжнародні медичні послуги можуть генерувати значний мультиплікативний ефект для національної економіки [3, 4].

У сучасній медичній та економічній літературі вітчизняні та зарубіжні науковці вивчають окремо деякі питання розвитку світової медицини та світових ринків медичних послуг. Серед економістів можна виділити таких як В.В. Баєв [5], Е.О. Гапонова [6], Т.Г. Желюк [7], Г.І. Михайліченко [8], М.Ю. Поворознник [9], Н.В. Резнікова [10]. Вони зазвичай розглядають медичний ринок як частину світового ринку туристичних послуг [5–10]. Медики, такі як І.К. Бабова [11], О.В. Гладкий [12], О.М. Лютак [13], В.З. Холявка [14], О. Шека [15], акцентують увагу на лікувальних можливостях сучасної медицини та використанні кваліфікації лікарів для приваблення іноземних пацієнтів [11–15]. Проте не вистачає публікацій, які поєднують медичні та економічні аспекти, і розглядають глобальний характер охорони здоров'я, а не лише її обмежений територіальний простір. Треба пам'ятати, що надання міжнародних медичних послуг належить до першого етапу інтернаціоналізації медичної діяльності, значно розширює її кордони і потребує іншого рівня аналізу та креативних підходів.

Мета роботи – охарактеризувати чинники зростання обсягів та якості надання міжнародних медичних послуг у світі та в Україні.

seem ambitious, pre-war examples indicate the significant potential for Ukraine to provide international medical services [2].

Medical tourism is a rapidly expanding multidisciplinary economic activity that combines healthcare and the tourism industry with patients increasingly travelling worldwide to receive medical services [3]. Medical tourism contributes to the professional development and income of local physicians at the destination points (in this context, of Ukrainian physicians), attracts foreign investment in tertiary sector hospitals, strengthens private clinics, and boosts export revenues to the national budget, thereby helping to balance the country's payment accounts. Thus, international medical services can generate a significant multiplier effect for national economies [3, 4]. In current medical and economic literature, both domestic and foreign scholars study various aspects of global medicine and international medical service markets. Among economists, notable Ukrainian figures include V.V. Baiev [5], E.O. Gaponova [6], T.H. Zheliuk [7], H.I. Mykhailichenko [8], M.Y. Povoroznyk [9], and N.V. Reznikova [10]. They typically view the medical market as part of the global market for tourism services [5-10]. Ukrainian medical professionals such as I.K. Babova [11], O.V. Hladkyi [12], O.M. Liutak [13], V.Z. Kholiavka [14], and O. Sheka [15] focus on the therapeutic capabilities of modern medicine and the use of physician expertise to attract foreign patients [11-15]. However, there is a lack of publications combining medical and economic aspects, examining the global nature of healthcare rather than its limited territorial scope. It is important to note that the provision of international medical services is the first stage of medical activity internationalization, significantly expanding its boundaries and requiring a different level of analysis and creative approaches.

Objective – to identify factors that contribute to the growth in volume and quality of international medical services worldwide and in Ukraine.

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 відомості про місце охорони здоров'я України на світовому ринку медичних послуг в умовах глобалізації.

На першому етапі проводили пошук літературних джерел за ключовими словами: охорона здоров'я України, світові медичні послуги, економічний розвиток, міжнародні пацієнти, глобалізація, медичний туризм. На другому етапі вивчались резюме статей та виключались публікації, які не відповідали критеріям дослідження. На третьому етапі вивчали повні тексти відібраних статей на відповідність крите-

MATERIALS AND METHODS

The selection of publications was carried out using databases such as 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/), which provided information about the position of Ukraine's healthcare in the global medical services market amid globalization.

In the first stage, literature sources were searched using keywords: Ukraine healthcare, global medical services, economic development, international patients, globalization, medical tourism. In the second stage, article abstracts were reviewed, and publications not meeting the research criteria were excluded. In the third stage, full texts of selected articles were examined

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

ріям включення до списку літератури та релевантність досліджень.

Критеріями включення публікацій до вибірки, яка підлягала контент-аналізу, були такі:

1) висвітлення сучасних відомостей щодо охорони здоров'я України на світовому ринку медичних послуг;

2) відповідність досліджень ключовим засадам доказової медицини;

3) відкритий доступ до повнотекстової статті.

for compliance with the inclusion criteria and the relevance of the studies.

The inclusion criteria for publications in the sample subjected to content analysis were as follows:

1) coverage of current information regarding Ukraine's healthcare in the global medical services market;

2) alignment of studies with the key principles of evidence-based medicine;

3) open access to the full text of the article.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ознакою охорони здоров'я будь-якої країни є взаємозв'язок зі світовим ринком медичних послуг, який швидко глобалізується. Його учасниками є надавачі та споживачі медичних послуг, які, на відміну від внутрішнього ринку, мешкають у різних країнах. Тобто фактично йдеться про експорт-імпорт медичних, оздоровчих, реабілітаційних, рекреаційних послуг. Окрім медичних професіоналів на цьому ринку працюють агентства медичного туризму та туроператори, медичні менеджери й маркетологи та інші фахівці, транспортні та логістичні компанії. Усі вони разом займаються зовнішньоекономічною діяльністю, яка супроводжує надання медичних послуг у різних варіантах, наприклад через укладання транскордонних угод між надавачами і споживачами медичних послуг, створення лікувально-профілактичними закладами або медичними фірмами підрозділів за кордоном, фізичну присутність там же медичних фахівців (лікування та консультації) та приватний медичний туризм. Останній швидко набирає обертів у світовому масштабі [16]. Його вартість на вершині розвитку медичного туризму (до початку епідемії коронавірусу) 2019 р. становила вже понад 37 млрд доларів [17].

Глобальний ринок медичних послуг має сумісні медичні та економічні ефекти. Він сприятиме розвитку міжнародної конкуренції серед лікарень, зростанню кваліфікації лікарів, поширенню можливостей вибору для пацієнтів і придбанню високоякісних профілактичних і лікувальних послуг у медичних закладах всього світу. Як наслідок, відновлення здоров'я людей відбувається швидше, що, окрім гуманітарного значення, сприяє інвестиціям у людський та інтелектуальний потенціал країни. Водночас, експорт медичних послуг є суттєвим джерелом збільшення фінансування охорони здоров'я в економіках різних країн і дає поштовх для розвитку внутрішнього медичного туризму. Тому ці послуги на світовому ринку зараз активно рекламуються медичними закладами, які потім проводять лікування та оздоровлення. Маркетологи різних фірм активно впливають на попит пацієнтів за допомогою ціни та нецінових факторів. Вони проводять брендинг та ребрендинг своїх клінік. Крім того, надання міжнародних медичних послуг виступає каталізатором для міжнародного медичного страхування. Розвиток ринку страхування сприяє підвищенню попиту на лікування та реабілітацію, формує нові економічні відносини між лікарнями, страховими компаніями та пацієнтами, створює світову інфраструктуру медичного ринку.

Які економічні та медичні умови й чинники зумовлюють збільшення кількості наданих міжнародних медичних послуг? У постіндустріальних краї-

RESULTS AND DISCUSSION

A hallmark of any country's healthcare system is its connection to the rapidly globalizing world market for medical services. Participants include providers and consumers of medical services who, unlike in domestic markets, reside in different countries. This effectively pertains to the export and import of medical, wellness, rehabilitation, and recreational services. In addition to medical professionals, this market involves medical tourism agencies, tour operators, medical managers and marketers, and other specialists, including transportation and logistics companies. Together, they engage in foreign economic activities accompanying the provision of medical services in various forms, such as through cross-border agreements between service providers and consumers, establishment of healthcare facilities or medical company branches abroad, physical presence of medical professionals (for treatment and consultations), and private medical tourism. The latter is rapidly gaining momentum globally [16]. At its peak before the COVID-19 pandemic in 2019, the value of the medical tourism market exceeded $37 billion [17].

The global market for medical services has synergistic medical and economic effects. It fosters international competition among hospitals, enhances physician qualifications, expands patient options for high-quality preventive and therapeutic services worldwide, and accelerates the recovery of human health, which, beyond its humanitarian significance, promotes investment in a country's human and intellectual capital. Concurrently, the export of medical services is a significant source of increased healthcare funding in various economies and stimulates the development of domestic medical tourism. Therefore, these services are actively marketed by healthcare institutions worldwide that subsequently provide treatment and wellness services. Marketers from different companies influence patient demand through both price and non-price factors, engaging in branding and rebranding their clinics. Additionally, the provision of international medical services acts as a catalyst for international medical insurance. The development of the insurance market boosts demand for treatment and rehabilitation, creates new economic relationships between hospitals, insurance companies, and patients, and establishes a global infrastructure for the medical market.

What economic and medical conditions and factors drive the increase in international medical services? In post-industrial countries, the primary factor is the improvement in quality of life and investment in its longevity, utilizing advanced medical technologies. Therefore, the main centers for medical tourism development world-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

нах головним чинником є поліпшення якості життя та інвестування у її тривалість. Для цього тут використовуються високі медичні технології, тому і головними центрами розвитку медичного туризму в світі є США, Канада, Велика Британія, Ізраїль [16]. До найбільш розвинених систем охорони здоров'я належить також Японія, медичні працівники якої надають новітні медичні послуги іноземцям, переважно з Китаю. Так, кількість медичних віз, виданих іноземним пацієнтам, зросла в цій країні з 70 у 2011 році до 1650 у 2018 році [17].

Одночасно, попит на якісну медицину зростає внаслідок аналогічного зростання витрат на охорону здоров'я, що демонструють статистичні дані організації економічного співробітництва та розвитку (ОЕСР) [18]. У країнах, що розвиваються, вони значно менші, про що свідчить графік, представлений на рис. 1.

wide are the USA, Canada, the United Kingdom, and Israel [16]. Japan also boasts one of the most developed healthcare systems, offering cutting-edge medical services to foreigners, predominantly from China. The number of medical visas issued to foreign patients in Japan rose from 70 in 2011 to 1,650 in 2018 [17].

Simultaneously, the demand for quality healthcare grows alongside increasing healthcare expenditures, as demonstrated by statistics from the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) [18]. In developing countries, these expenditures are significantly lower, as depicted in Figure 1.

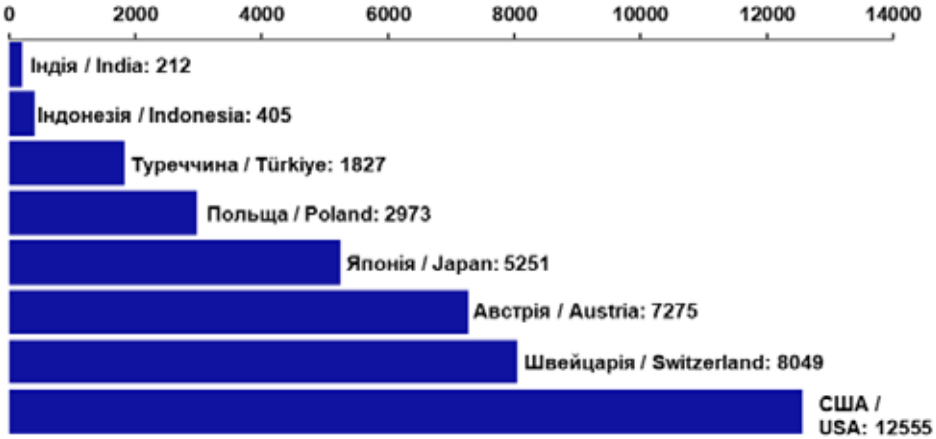


Рис. 1. Витрати на охорону здоров'я в окремих країнах світу на душу населення у доларах США, 2022 р. [18]
Fig. 1. Healthcare expenditures per capita in selected countries (USD), 2022 [18]

Так, рівень витрат на охорону здоров'я на душу населення у США у 59,2 рази перевищує цей показник в Індії. А загалом, рівень витрат на охорону здоров'я на душу населення у розвинених країнах, що показані на рисунку 1, у середньому у 7 разів вищий, ніж у країнах, що розвиваються. Проте, одним із нетривіальних наслідків цієї ситуації є те, що більш бідні країни можуть надавати пацієнтам, за інших рівних умов, дешевше лікування. І дійсно, за даними дослідників, економія витрат американців на медичні послуги у різних країнах складає у: Бразилії – 20–30%, у Коста-Риці – 45–65%, Індії – 65–90%, Малайзії – 65–80%, Мексиці – 40–65%, Сінгапурі – 25–40%, Південній Кореї – 30–45%, Таїланді – 50–75%, Туреччині – 50–65%, на Тайваню – 40–55%, [4, с. 16–17]. Не дивно, що зростають ємність медичних ринків цих країн, а також їхня якість та привабливість, про що свідчить таблиця 1.

Наведені в таблиці 1 дані показують, що серед 20 країн світу, які мають найбільші переваги для зарубіжних туристів, половина – це країни, що розвиваються, особливо азійські країни. Вони приваблюють пацієнтів не тільки широким спектром лікувальних можливостей (від трансплантації до стоматології та косметології), але й своєю природою та багатою культурною спадщиною. Зокрема, у Сінгапурі нещодавно створені міжнародні центри обслуговування паці-

Healthcare expenditures per capita in the USA exceed those in India by 592 times. On average, healthcare spending per capita in developed countries, as shown in Figure 1, is seven times higher than in developing countries. One non-trivial consequence of this disparity is that poorer countries can offer patients cheaper treatment under comparable conditions. Indeed, according to researchers, cost savings for Americans seeking medical services in various countries are as follows: Brazil – 20–30%, Costa Rica – 45–65%, India – 65–90%, Malaysia – 65–80%, Mexico – 40–65%, Singapore – 25–40%, South Korea – 30–45%, Thailand – 50–75%, Turkey – 50–65%, and Taiwan – 40–55% [4, pp. 16–17]. It is not surprising that the capacity and quality of medical markets in these countries are growing, as illustrated in Table 1.

The data in Table 1 indicate that among the top 20 countries most advantageous for international tourists, half are developing countries, particularly Asian nations. They attract patients with a wide range of treatment options (from transplantation to dentistry and cosmetology), as well as their natural and cultural heritage. For instance, Singapore recently established international patient service centers functioning as medical/tourism agencies mediating between foreign patients and Singaporean clinics and physicians [16]. Türkiye has developed an innovative high-tech medical

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

єнтів, які діють як медичні/туристичні агентства для посередництва між зарубіжними пацієнтами та сінгапурськими клініками і лікарями [16]. Інноваційну, високотехнологічну медичну індустрію, яка щорічно обслуговує 1 млн людей зі всього світу, створила Туреччина [19]. Є також багато інших прикладів.

industry that annually serves 1 million people worldwide [19]. There are many other examples.

Таблиця 1. Топ-20 країн із в'їзного медичного туризму, 2020 р.[16]
Table 1. Top 20 countries for inbound medical tourism, 2020 [16]

№ з/п / Rank	Індекс медичного туризму / Medical tourism index	Держава / Country
1	76,47	Канада / Canada
2	76,43	Сінгапур / Singapore
3	74, 23	Японія / Japan
4	72,93	Іспанія / Spain
5	71,92	Велика Британія / UK
6	71,85	ОАЕ (Дубай) / UAE (Dubai)
7	71,73	Коста-Рика / Costa Rica
8	70,78	Ізраїль / Israel
9	70,26	ОАЕ (Абу-Дабі) / UAE (Abu Dhabi)
10	69,80	Індія / India
11	69,61	Франція / France
12	69,29	Німеччина / Germany
13	69,03	Оман / Oman
14	68,81	Південна Корея / South Korea
15	68,32	Чехія / Czech Republic
16	67,93	Тайвань / Taiwan
17	66,83	Таїланд / Thailand
18	66,75	Італія / Italy
19	66,32	Домініканська Республіка / Dominican Republic
20	66,26	Аргентина / Argentina

Ще одним чинником попиту на міжнародні медичні послуги є відсутність (або обмеженість, чи відтермінованість) певних медичних послуг для пацієнтів на їх батьківщині. Так, у скандинавських країнах, де існує бюджетно-страхове фінансування охорони здоров'я, діє тенденція до стримування цін на лікування (так звана «стеля» цін). Так само це стосується Великої Британії, Німеччини, Канади – країн з великою фінансовою участю держави у фінансуванні системи охорони здоров'я. Проте відомо, що дефіцит медичних послуг на ринку завжди стимулює черги на планові діагностичні обстеження (наприклад, ультразвукову діагностику) або хірургічні операції. Тому пацієнти воліють виїхати туди, де лікування можна отримати максимально швидко. Крім того, у багатьох країнах медична страхівка не покриває лікування хронічних захворювань, певні операції, повноцінне стоматологічне лікування та протезування. Тому пацієнти їдуть за кордон. І навпаки, у низці бідних країн якісного лікування певних захворювань не існує зовсім, тому заможні пацієнти їдуть до Німеччини, Ізраїлю, Великої Британії, Франції, Іспанії. Яскравим сучасним прикладом зараз є ортопедичні операції та реабілітація після них, які пропонують воїнам ЗСУ в інших країнах.

Наступним чинником розвитку медичного туризму є міграційні потоки у сучасному світі, які набирають

Another factor driving demand for international medical services is the lack (or limitation or postponement) of certain medical services for patients in their home countries. In Scandinavian countries with budget-insurance healthcare financing, there is a trend toward price control for treatments (the so-called «price ceiling»). This also applies to the United Kingdom, Germany, and Canada, where the government plays a significant role in healthcare financing. However, it is known that a shortage of medical services in the market always stimulates queues for scheduled diagnostic examinations (such as ultrasound) or surgeries. Thus, patients prefer to travel where treatment is readily available. Additionally, in many countries, medical insurance does not cover chronic disease treatments, certain surgeries, comprehensive dental care, and prosthetics. Hence, patients travel abroad. Conversely, in several poor countries, quality treatment for certain diseases is entirely absent, prompting wealthy patients to seek care in Germany, Israel, the United Kingdom, France, and Spain. A current example is the orthopedic surgeries and rehabilitation offered to Ukrainian Armed Forces soldiers abroad.

Migration flows, which are intensifying globally, also drive the development of medical tourism. At the end of 2022, there were 117 million international migrants, totaling 281 million globally [20]. Firstly, migrants increase remittances to their home countries, enhancing both

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

обертів. Тільки наприкінці 2022 р. міжнародними мігрантами стали 117 млн людей, а загалом їх – 281 млн [20]. По-перше, мігранти збільшують надходження до рідних країн, що посилює платіжеспроможність і громадян, і держави, тобто на мікро- та макрорівнях і збільшують фінансування національної охорони здоров'я. Так, з 2000 р. по 2022 рік перекази мігрантів збільшилися на 650%, зі 128 до 831 млрд доларів [20]. По-друге, іммігранти збільшують як попит на медичні послуги в країнах-реципієнтах, так і ємність глобального ринку цих послуг загалом.

Виникає питання: які чинники надання міжнародних медичних послуг зможуть потенційно спрацювати в Україні після війни? Оскільки у світовому рейтингу 2020–2021 рр. серед 46 країн наша країна відсутня [16]. По-перше, це – ціна медичних послуг, яка є значно меншою, ніж у розвинених країнах, а цінова політика приватних фірм в Україні відрізняється гнучкістю. Це також відсутність у нас черг на лікування, швидкий доступ до лікарів первинного та вторинного рівня медицини, а також відносно висока кваліфікація лікарів України. До війни якість лікування з певного профілю в лікувальних закладах України відповідала якості та рівню комфорту в багатьох зарубіжних клініках [21]. Серед зацікавлених іноземних пацієнтів були зокрема ті, хто не мав страхового покриття за операції чи лікування хронічних захворювань у рідній країні. Значним попитом у іноземців завжди користувалися стоматологічні послуги, репродуктивна медицина, косметологія, протезування, а також рекреаційно-оздоровчі послуги, які надають санаторно-курортні заклади. Географічне положення нашої держави характеризується різноманітними природними та кліматичними ресурсами, які зумовлюють розвиток медичного туризму.

У деяких країнах не вистачає висококваліфікованих медичних експертів, а в Україні їх є досить багато, про що свідчить досвід лікування коронавірусу. Важливими є також законний дозвіл та гнучке регулювання проведення певних медичних операцій (наприклад у гінекології або косметології), які заборонені в інших країнах. Українські лікарі, як правило, дотримуються конфіденційності та анонімності, а відстань дозволяє пацієнтам із сусідніх країн уникати цікавості друзів та родичів щодо змісту відпустки за кордоном. У найліпших приватних клініках України відсутній мовний бар'єр для англомовних пацієнтів. І його зовсім немає для багатьох емігрантів з України, кількість яких, на жаль, зростає через війну.

У наш час привабливість медицини та санаторно-курортного лікування в Україні псується небезпекою через можливе бомбардування Росією нашої території. Але до 24.02.2022 р., за даними Української асоціації медичного туризму, до нас приїжджали оздоровлятися іноземці навіть з Великої Британії, Ізраїлю, Італії, Німеччини, США та Франції [21]. У довоєнній Україні медичні суб'єкти зміцнювали свої можливості, нарощували ресурси [22], про що свідчить таблиця 2. Поступово клініки розширялися та створювали базу для іноземних пацієнтів, які, у свою чергу, ставали інвесторами на додаток до бюджетного фінансування охорони здоров'я.

Дані таблиці 2 свідчать про те, що найбільша динаміка обсягу реалізованих послуг суб'єктами медичної

individual and state purchasing power at micro and macro levels, thereby boosting national healthcare funding. From 2000 to 2022, remittances increased by 650%, from $128 billion to $831 billion [20]. Secondly, immigrants increase the demand for medical services in recipient countries and the overall capacity of the global medical services market.

An important question arises: what factors in providing international medical services could potentially work in Ukraine after the war? This is particularly pertinent as, in the global rankings of 2020–2021, Ukraine was absent among the 46 countries listed [16]. Firstly, the cost of medical services in Ukraine is significantly lower than in developed countries, and the pricing policies of private firms in Ukraine are flexible. Additionally, there are no queues for treatment, and there is quick access to primary and secondary level doctors, as well as relatively high qualifications of Ukrainian doctors. Before the war, the quality of treatment in certain profiles in Ukrainian healthcare institutions matched the quality and comfort level of many foreign clinics [21]. Foreign patients who were particularly interested included those without insurance coverage for surgeries or chronic disease treatments in their home countries. Dental services, reproductive medicine, cosmetology, prosthetics, as well as recreational and health services provided by sanatorium-resort institutions, have always been in high demand among foreigners. The geographical location of our state, characterized by diverse natural and climatic resources, contributes to the development of medical tourism.

In some countries, there is a shortage of highly qualified medical experts, while in Ukraine there are quite a number of them, as evidenced by the experience in treating coronavirus. Also important are the legal permissions and flexible regulations for certain medical procedures (e.g., in gynecology or cosmetology) that are prohibited in other countries. Ukrainian doctors usually adhere to confidentiality and anonymity, and the distance allows patients from neighboring countries to avoid curiosity from friends and relatives regarding the nature of their overseas vacation. In the best private clinics in Ukraine, there is no language barrier for English-speaking patients. Unfortunately, this is not an issue for many emigrants from Ukraine, the number of which is growing due to the war.

Currently, the attractiveness of medicine and sanatorium-resort treatment in Ukraine is marred by the danger of possible Russian bombing of our territory. However, until 24.02.2022, according to the Ukrainian Association of Medical Tourism, foreigners even from Great Britain, Israel, Italy, Germany, the USA, and France came to Ukraine for health improvement [21]. Before the war, medical entities in Ukraine were strengthening their capabilities and increasing resources [22], as evidenced by Table 2. Gradually, clinics were expanding and creating a base for foreign patients, who in turn became investors in addition to budget funding for healthcare.

Data in Table 2 indicate that the greatest dynamics of the volume of services provided by medical and dental practices in Ukraine from 2010–2020 were observed in general medical practice establishments – almost 24 times increase. At the same time, specialized

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

та стоматологічної практики України за період 2010–2020 рр. спостерігалась у закладах загальної медичної практики – майже у 24 рази. Разом з тим, спеціалізована медична практика за цей період збільшилася очевидно менше – у понад 11,5 рази; стоматологічна практика ще менше – у 8,2 рази. Це, зокрема, може свідчити про те, що потенціал надання медичних послуг не тільки в Україні, але й за кордоном не використовувався на необхідному рівні. Адже саме вторинна і третинна, а також стоматологічна допомоги більшою мірою, ніж державна первинна медицина, мають конкурентоспроможність на світовому ринку. Треба також мати на увазі, що такий результат зумовлений структурною перебудовою охорони здоров'я внаслідок медичної реформи в Україні. Крім того, слід враховувати неформальні платежі українським лікарям за надану допомогу, тому реальний обсяг послуг суб'єктів медичної практики є, скоріше за все, вищим. Тим не менш, зараз і після війни треба збільшити ефективність використання експортних можливостей вузьких спеціалістів і стоматологічних фірм України.

medical practice increased by more than 115 times; dental practice even less – by 82 times. This may indicate that the potential for providing medical services not only in Ukraine but also abroad was not utilized at the necessary level. After all, secondary and tertiary, as well as dental care, are more competitive in the global market than state primary medicine. It should also be noted that such results are due to the structural restructuring of healthcare as a result of medical reform in Ukraine. Additionally, informal payments to Ukrainian doctors for provided assistance should be considered, making the real volume of services provided likely higher. Nevertheless, now and after the war, it is necessary to increase the efficiency of utilizing the export potential of narrow specialists and dental clinics in Ukraine.

Таблиця 2. Динаміка обсягу реалізованих послуг суб'єктів медичної та стоматологічної практики України в 2010–2020 рр. (тис. грн) [22]
Table 2. Changes in the volume of services provided by medical and dental practices in ukraine from 2010–2020 (thousands of UAH) [22]

Рік Year	Медична та стоматологічна практика загалом Medical and Dental Practice Overall	Загальна медична практика General Medical Practice	Спеціалізована медична практика Specialized Medical Practice	Стоматологічна практика Dental Practice
2010	2087613,4	1173792,6	477471,8	436349,0
2012	3086310,3	1873000,0	583154,1	630156,2
2014	3724912,8	2533746,3	603846,2	587320,3
2016	8358569,8	5917608,8	1401233,7	1039727,3
2018	14899369,0	11368341,0	2041514,7	1489513,3
2020	37276720,6	28166374,3	5516670,7	3593675,6

Приносячи економічні вигоди країнам, які приймають пацієнтів, медичний туризм, водночас, може створювати етичні проблеми, а також питання щодо якості, інформованості та ризиків для самих туристів [3, 23]. У цих умовах доцільно підвищити кількість міждисциплінарних досліджень і покращити співпрацю між різними секторами економіки й медицини [24, 25], у тому числі, в рамках стратегії виходу національної охорони здоров'я на іноземні ринки та спільної праці медиків, економістів, маркетологів і менеджерів.

Bringing economic benefits to recipient counties, medical tourism can simultaneously create ethical problems and raise issues regarding the quality of care and risks for the tourists themselves [3, 23]. Under these conditions, it is advisable to increase the number of interdisciplinary studies and enhance cooperation between different sectors of the economy and medicine [24, 25], including within the national healthcare strategy to enter foreign markets, involving joint efforts from medical professionals, economists, marketing specialists, and managers.

ВИСНОВКИ

Глобалізація охорони здоров'я відбувається на основі таких чинників, як глобалізація економіки загалом, відкритість багатьох країн, співробітництво і конкуренція лікарів і клінік, міграційні процеси, зростання доходів громадян у розвинених країнах, диференціація цін на медичні послуги у різних регіонах і країнах світу, зростання якості лікування в країнах, що розвиваються, та пропозиція нових видів медичної допомоги і оздоровлення. Усе це створює нові вимоги щодо охорони здоров'я України після

CONCLUSIONS

The globalization of healthcare is based on factors such as the globalization of the economy in general, the openness of many countries, cooperation and competition among doctors and clinics, migration processes, increasing incomes of citizens in developed countries, differentiation in prices for medical services in various regions and countries worldwide, the growing quality of treatment in developing countries, and the offering of new types of medical assistance and health improvement. All this creates new requirements for health-

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

війни. Треба підтримувати експортний потенціал нашої країни, який вже частково сформовано, нарощувати нові види послуг, які користуються попитом на світовому ринку – це стоматологія, протезування, відновлювальна медицина, рекреаційні, лікувально-оздоровчі, реабілітаційні послуги у комплексі з туризмом і курортним бізнесом.

care in Ukraine after the war. It is essential to support the export potential of our country, which has already been partially established, and to develop new types of services that are in demand in the global market. These services include dentistry, prosthetics, rehabilitation medicine, recreational and health rehabilitation services, combined with tourism and the resort business.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Dzhus M., Golovach I. Impact of Ukrainian-russian war on health care and humanitarian crisis. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness.* 2023. № 17. e340 p. DOI: https://doi.org/10.1017/dmp.2022.265
2. Vovk L., Beztelesna L., Pliashko O. Identification of factors for the development of medical tourism in the world. *Interantional Journal of Environmental Research and Public Health.* 2021. № 18. 11205 p. DOI: https://doi.org/10.3390/ijerph182111205
3. McCartney G., Wang C.F. Medical tourism and medical tourists: providing a sustainable course to integrating health treatments with tourism. *Journal of Travel Medicine.* 2024. № 7. taae034 p. DOI: https://doi.org/10.1093/jtm/taae034
4. Raoofi S., Khodayari-Zarnaq R., Vatankhan S. Healthcare provision for medical tourism: a comparative review. *Journal of Education and Health Promotion*. 2024. № 13. 63 p. DOI: https://doi.org/10.4103/jehp.jehp_1740_22
5. Баєв В.В. Характеристика структурних елементів ринку медичного туризму. *Ефективна економіка.* 2015. № 3. URL: http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=3891
6. Гапонова Е.О. Сучасні тенденції розвитку світового ринку медичних послуг. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата економічних наук. Харків, 2019. 23 с.
7. Желюк Т., Чигур О. Регіональні ринки медичних послуг: специфіка формування і надання в умовах проведення медичної реформи. *Регіональні аспекти розвитку продуктивних сил України.* 2020. № 25. С. 13–22. DOI: https://doi.org/10.35774/rarrpsu2020.25.013
8. Михайліченко Г.І. Розвиток туристичного продукту лікувально-оздоровчого та медичного туризму України. *Ефективна економіка.* 2020. № 2. DOI https://doi.org/10.32702/2307-2105-2020.2.2
9. Поворозник М.Ю. Міжнародний медичний туризм у формуванні глобального сегменту медичних послуг. *Вісник соціально-економічних досліджень*. 2017. №2–3, С. 16–24. DOI: https://doi.org/10.33987/vsed.2-3(63-64).2017.16-24
10. Резнікова Н.В., Іващенко О.А., Войтович О.І. Моделі конкуренції на ринку послуг в сфері охорони здоров'я: проблема використання потенціалу медичної галузі та її регулювання в умовах глобалізації. *Ефективна економіка*. 2018. № 1. URL: http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=6277
11. Бабова І.К., Плакіда О.Л. Медичний туризм: ортопедичний сегмент. *Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія.* 2019. № 2. С. 16–21. DOI: https://doi.org/10.32618/J19MRBPH216
12. Гладкий О.В., Килівник В.С., Рудий Ю.Й., Руда І.В., Марчук О.В. Особливості розвитку медичного туризму в західних регіонах України. *Реабілітаційні та фізкультурно-рекреаційні аспекти розвитку людини.* 2022. № 11. С. 90–95. DOI: https://doi.org/10.32782/2522-1795.2022.11.10
13. Лютак О.М., Столярчук Я.М., Войтович С.Я. Структурна динаміка розвитку ринку медичних послуг України в умовах глобальних трансформацій. *Актуальні проблеми економіки.* 2019. № 4(214). С. 4–12.
14. Холявка В.З., Лешко Х.С., Мочульська О.М., Кухтій А.О. Сучасні аспекти, фактори впливу і перспективи розвитку медичного та лікувально-оздоровчого туризму в Україні. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України.* 2019. № 1(79). С. 25–33. DOI: https://doi.org/10.11603/1681-2786.2019.1.10280
15. Шека О. Глобальні тренди та інноваційні підходи до організації лікувально-оздоровчого туризму на курортах. *Актуальні проблеми державного управління*. 2019. № 3(79). С. 85–91. DOI: https://doi.org/10.35432/1993-8330appa3792019185437
16. Medical tourism index 2020–2021. *MTI Overall Ranking 2020-2021*. URL: https://www.medicaltourism.com/mti/home (дата звернення: 09.05.2024).
17. Top 10 Medical Tourism Destinations in the World. URL: https://www.magazine.medicaltourism.com/article/top-10-medical-tourism-destinations-world (дата звернення: 09.05.2024).
18. OECD Health Data. *Health expenditure indicators.* URL: https://data.oecd.org/healthres/health-spending.htm (дата звернення: 08.05.2024)
19. Treatment in Turkey: modern and affordable. *FORBS*. URL: https://www.magazine.medicaltourism.com/article/top-10-medical-tourism-destinations-world (дата звернення: 26.06.2022).

REFERENCES

1. Dzhus M, Golovach I. Impact of Ukrainian-russian war on health care and humanitarian crisis. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness.* 2023;17:e340. DOI: https://doi.org/10.1017/dmp.2022.265
2. Vovk L, Beztelesna L, Pliashko O. Identification of factors for the development of medical tourism in the world. *Interantional Journal of Environmental Research and Public Health.* 2021;18:11205. DOI: https://doi.org/10.3390/ijerph182111205
3. McCartney G, Wang CF. Medical tourism and medical tourists: providing a sustainable course to integrating health treatments with tourism. *Journal of Travel Medicine*. 2024;7:taae034. DOI: https://doi.org/10.1093/jtm/taae034
4. Raoofi S, Khodayari-Zarnaq R, Vatankhan S. Healthcare provision for medical tourism: a comparative review. *Journal of Education and Health Promotion.* 2024;13:63. DOI: https://doi.org/10.4103/jehp.jehp_1740_22
5. Baev VV. Characteristics of the structural elements of the medical tourism market. *Efficient economy*. 2015;3. (In Ukrainian). URL: http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=3891
6. Gaponova EO. Modern trends in the development of the world market of medical services. Abstract of the dissertation for obtaining the scientific degree of Candidate of Economic Sciences. Kharkiv, 2019;23. (In Ukrainian).
7. Zhelyuk T, Chigur O. Regional markets of medical services: specifics of formation and provision in the conditions of medical reform. *Regional aspects of the development of productive forces of Ukraine.* 2020;25:13–22. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.35774/rarrpsu2020.25.013
8. Mykhailichenko GI. Development of the tourist product of health and medical tourism of Ukraine. *Efficient economy.* 2020;2. (In Ukrainian). DOI https://doi.org/10.32702/2307-2105-2020.2.2
9. Povoroznyk MYu. International medical tourism in the formation of the global segment of medical services. *Herald of socio-economic research*. 2017;2–3:16–24. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.33987/vsed.2-3(63-64).2017.16-24
10. Reznikova NV, Ivashchenko OA, Voytovych OI. Models of competition in the market of services in the field of health care: the problem of using the potential of the medical industry and its regulation in the conditions of globalization. *Efficient economy.* 2018;1. (In Ukrainian). URL: http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=6277
11. Babova IK, Plakida OL. Medical tourism: orthopedic segment. *Medical rehabilitation, spa treatment, physiotherapy.* 2019;2:16–21. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32618/J19MRBPH216
12. Hladkyi OV, Kilivnyk VS, Rudy YY, Rudy IV, Marchuk OV. Peculiarities of the development of medical tourism in the western regions of Ukraine. *Rehabilitation and physical culture and recreational aspects of human development.* 2022;11:90–5. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.32782/2522-1795.2022.11.10
13. Lyutak OM, Stolyarchuk YM, Voytovych SYa. Structural dynamics of the development of the medical services market of Ukraine in the conditions of global transformations. *Actual problems of the economy.* 2019;4(214):4–12. (In Ukrainian).
14. Kholyavka VZ, Leshko HS, Mochulska OM, Kukhtiy AO. Modern aspects, influencing factors and prospects for the development of medical and health tourism in Ukraine. *Herald of social hygiene and health care organization of Ukraine.* 2019;1(79):25–33. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.11603/1681-2786.2019.1.10280
15. Sheka O. Global trends and innovative approaches to the organization of health tourism at resorts. *Actual problems of public administration.* 2019;3(79):85–91. (In Ukrainian). DOI: https://doi.org/10.35432/1993-8330appa3792019185437
16. Medical tourism index 2020–2021. *MTI Overall Ranking 2020-2021*. URL: https://www.medicaltourism.com/mti/home
17. Top 10 Medical Tourism Destinations in the World. URL: https://www.magazine.medicaltourism.com/article/top-10-medical-tourism-destinations-world
18. OECD Health Data. *Health expenditure indicators.* URL: https://data.oecd.org/healthres/health-spending.htm
19. Treatment in Turkey: modern and affordable. *FORBS*. URL: https://www.magazine.medicaltourism.com/article/top-10-medical-tourism-destinations-world

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

20. The World Migration Report 2024. URL: https://worldmigrationreport.iom.int/news/world-migration-report-2024-reveals-latest-global-trends-and-challenges-human-mobility (дата звернення 09.05.2024)
21. Офіційний сайт «Українська Асоціація Медичного Туризму» URL: https://uamt.com.ua/UA/ (дата звернення: 09.05.2024)
22. Обсяг реалізованої продукції (товарів, послуг) суб'єктів господарювання за видами економічної діяльності (2010–2020), тис. грн: експрес-випуск. *Державна служба статистики України*. 2021. URL: http://www.ukrstat.gov.ua (дата звернення: 10.05.2024)
23. Roucka T.M. Medical tourism: ethical considerations for patients and dentists. *General Dentistry*. 2024. № 72. P. 7–9.
24. Sandberg D.S. Medical tourism: an emerging global healthcare industry. *International Journal of Healthcare Management*. 2017. № 4. P. 281–288. DOI: https://doi.org/10.1080/20479700.2017.1296213
25. Xu A., Johari S.A., Khademolomoom A.H., Khabaz M.T., Umurzoqovich R.S., Hosseini S., Semiromi D.T. Investigation of management of international education considering sustainable medical tourism and entrepreneurship. *Heliyon*. 2023. № 9. e12691 p. DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12691

20. The World Migration Report 2024. URL: https://worldmigrationreport.iom.int/news/world-migration-report-2024-reveals-latest-global-trends-and-challenges-human-mobility
21. Official website of the «Ukrainian Association of Medical Tourism» (In Ukrainian). URL: https://uamt.com.ua/UA/
22. Volume of sold products (goods, services) of economic entities by types of economic activity (2010–2020), thousand UAH: express issue. *State Statistics Service of Ukraine*. 2021. (In Ukrainian). URL: http://www.ukrstat.gov.ua
23. Roucka TM. Medical tourism: ethical considerations for patients and dentists. *General Dentistry*. 2024;72;7–9.
24. Sandberg DS. Medical tourism: an emerging global healthcare industry. *International Journal of Healthcare Management*. 2017;4:281–8. DOI: https://doi.org/10.1080/20479700.2017.1296213
25. Xu A, Johari SA, Khademolomoom AH, Khabaz MT, Umurzoqovich RS, Hosseini S, Semiromi DT. Investigation of management of international education considering sustainable medical tourism and entrepreneurship. *Heliyon*. 2023;9:e12691. DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12691

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження повинні зосередитися на аналізі впливу медичного туризму на розвиток економіки України, зокрема в умовах післявоєнного відновлення. Важливо вивчити ефективність різних стратегій залучення міжнародних пацієнтів, включаючи маркетингові кампанії та партнерство з закордонними клініками. Крім того, необхідно дослідити питання якості медичних послуг та етичні аспекти, пов'язані з медичним туризмом, щоб забезпечити безпечність і задоволеність пацієнтів. Взаємодія між різними секторами, зокрема медициною та економікою, може стати ключовим фактором для підвищення конкурентоспроможності українських медичних послуг на міжнародному ринку.

Prospects for further research

Further research should focus on analyzing the impact of medical tourism on the economic development of Ukraine, particularly in the context of post-war recovery. It is important to study the effectiveness of various strategies for attracting international patients, including marketing campaigns and partnerships with foreign clinics. Additionally, there is a need to investigate the quality of medical services and the ethical aspects related to medical tourism to ensure patient safety and satisfaction. Interaction between different sectors, particularly healthcare and the economy, could be a key factor in enhancing the competitiveness of Ukrainian medical services in the international market.

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 declare the absence of any actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, 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

Робота не отримувала фінансування видатками Державного бюджету України.

Funding information

The work did not receive funding from the State Budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Камінська Тетяна Михайлівна – доктор економічних наук, професор, професор (емерит) кафедри економічної теорії Національного юридичного університету імені Ярослава Мудрого Міністерства освіти і науки України; вул. Григорія Сковороди, буд. 77, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: kamtm@ukr.net
моб.: +38 (097) 062-26-54

Внесок автора: *ідея роботи, формулювання мети, збір даних та інтерпретація отриманих результатів, написання тексту статті, формулювання висновків.*

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Kaminska Tetiana Mykhailivna – Doctor of Economic Sciences, Professor, Emerita Professor of the Department of Economic Theory of the Yaroslav Mudryi National Law University, Ministry of Education and Science of Ukraine; 77 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: kamtm@ukr.net
tel. +38 (097) 062-26-54

Author's contribution: *idea of the work, formulation of the aim, data collection and interpretation of results, writing the text of the article, formulation of conclusions.*

ISSN 2313-2396 (Online)
ISSN 2313-6693 (Print)

Олексюк Ольга Богданівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри громадського здоров'я Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького Міністерства охорони здоров'я України; вул. Зелена, буд. 12, м. Львів, Україна, 79010;
e-mail: o.oleksiuk@meduniv.lviv.ua
моб.: +38 (095) 324-19-97
Внесок автора: *участь у зборі даних та інтерпретації отриманих результатів, участь у написанні тексту статті, редагування рукопису.*

Коморовський Роман Ростиславович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини № 2 Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України; майдан Волі, буд. 1, м. Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (097) 981-49-77
Внесок автора: *підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів, редагування рукопису.*

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету 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, участь у обговоренні отриманих результатів.*

Oleksiuk Olha Bohdanivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Public Health of the Danylo Halytskyi Lviv National Medical University Ministry of Health of Ukraine; 12 Zelena Str., Lviv, Ukraine, 79010;
e-mail: o.oleksiuk@meduniv.lviv.ua
tel.: +38 (095) 324-19-97
Author's contribution: *participation in data collection and interpretation of results, involvement in writing the article text, editing the manuscript.*

Komorovsky Roman Rostyslavovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Internal Medicine № 2 of the I. Ya. Horbachevskyi Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 1 Majdan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
tel.: +38 (097) 981-49-77
Author's contribution*: selection of literary sources, participation in the discussion of the obtained results, manuscript editing.*

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 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, participation in the discussion of the obtained results.*

Рукопис надійшов *Manuscript was received* 27.05.2024	Отримано після рецензування *Received after review* 30.06.2024	Прийнято до друку *Accepted for printing* 16.09.2024	Опубліковано *Published* 30.09.2024

Щоквартальне науково-практичне видання

ВІСНИК ХАРКІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА. СЕРІЯ МЕДИЦИНА

ТОМ XXXII
3(50) | 2024

Quarterly research and practice edition

THE JOURNAL OF V.N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY. SERIES MEDICINE

VOLUME XXXII
3(50) | 2024

Відповідальний за випуск	*М.С. Матвєєнко*	Responsible for edition	*M.S. Matvieienko*
Редактор випуску	*Ф.В. Гладких*	Issue Editor	*F.V. Hladkykh*
Технічний редактор	*О.М. Гребенюк*	Technical Editor	*O.M. Hrebeniuk*
Літературні редактори	*Т.Г. Золотарьова* *Т.І. Кобзар* *Н.М. Волошина*	Literary Editors	*T.G. Zolotarova* *T.I. Kobzar* *N.M. Voloshyna*
Комп'ютерна верстка	*Л.Ю. Свєтайло*	Computer layout	*L.Yu. Svietailo*

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: journal.medicine@karazin.ua

The mock-up 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: journal.medicine@karazin.ua

Формат 60×84 1/8. Ум. друк. арк. 21,5.
Наклад 100 прим.

Format 60×84 1/8. Conventional printed sheets 21,5.
An edition of one hundred copies.

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.

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.